

Marcia Telma Guimarães Savioli

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS, RADIOLÓGICOS E
CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DO *MYCOBACTERIUM*
TUBERCULOSIS ASSOCIADOS A FATORES DE RISCO PARA
CURA DA TUBERCULOSE MULTIDROGARRESISTENTE**

Tese apresentada à Universidade Federal
de São Paulo - Escola Paulista de
Medicina, para obtenção do título de
Doutor em Ciências

São Paulo

2017

Marcia Telma Guimarães Savioli

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS, RADIOLÓGICOS E
CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DO *MYCOBACTERIUM*
TUBERCULOSIS ASSOCIADOS A FATORES DE RISCO PARA
CURA DA TUBERCULOSE MULTIDROGARRESISTENTE**

Tese apresentada à Universidade
Federal de São Paulo - Escola Paulista
de Medicina, para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Ilka Lopes Santoro

Coorientadora:

Dr^a. Juliana Franceschini

São Paulo

2017

Savioli, Marcia Telma Guimarães

Aspectos epidemiológicos, clínicos, radiológicos e características fenotípicas do *Mycobacterium tuberculosis* associados a fatores de risco para cura da tuberculose multidroga-resistente / Marcia Telma Guimarães Savioli. - São Paulo, 2017.

xvii, 74f.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Pneumologia.

Título em inglês: Epidemiological, clinical, radiological and phenotypic characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* associated with risk factors for cure of multidrug-resistant tuberculosis.

1. Epidemiologia . 2. Tuberculose resistente a múltiplos fármacos. 3. Fatores de risco. 4. Teste de sensibilidade microbiano.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PNEUMOLOGIA

Chefe do Departamento de Medicina: Prof^a. Dr^a. Maria Teresa Zanella

Chefe da Disciplina de Pneumologia: Prof. Dr. Osvaldo Shigueomi Beppu

Coordenador do Curso de Pós-graduação: Dr. Oliver A. Nascimento

Marcia Telma Guimarães Savioli

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS, RADIOLÓGICOS E
CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DO *MYCOBACTERIUM*
TUBERCULOSIS ASSOCIADOS A FATORES DE RISCO PARA
CURA DA TUBERCULOSE MULTIDROGARRESISTENTE**

Presidente da banca:

Prof^a. Dr^a. Ilka Lopes Santoro

Banca examinadora

Prof^a. Dr^a. Ana Luiza de Godoy Fernandes

Prof^a. Dr^a. Marcia Seiscentos

Prof^a. Dr^a. Daisy Nakamura Sato

Prof. Dr. Nelson Morrone

Suplentes

Prof^a. Dr^a. Denise da Silva Rodrigues

Prof. Dr. Oliver A. Nascimento

Dedico este trabalho

*Aos meus pais que tudo me deram, possibilitando conquistar
meus objetivos.*

*Ao meu esposo e meus filhos pela paciência e o estímulo
permanente.*

Agradecimentos especiais

Aos meus pacientes que estimularam o desejo contínuo de crescer e ir além.

Ao Instituto Clemente Ferreira e a todos os amigos que lá fiz e que colaboraram na execução deste trabalho.

Ao Dr. Fernando Augusto Fiuza de Melo responsável pelo estímulo ao conhecimento além de permitir que eu usufruísse de seu convívio e sabedoria.

Ao Dr. Luís Carlos Pereira e Dr. Salvador Mercúrio que talvez sem saber foram meus grandes incentivadores profissionais.

A Prof. Dra. Sílvia Leão pela orientação neste trabalho.

A todos da Disciplina de Pneumologia da Escola Paulista de Medicina, UNIFESP, que de forma maravilhosa me acolheram em um momento especial de minha vida profissional.

A Dra. Juliana Franceschini, minha co-orientadora.

A Prof. Dra. Ilka Santoro, minha orientadora, pela tolerância e pelo tempo dedicado a este trabalho.

*“O conhecimento torna a alma jovem e diminui a amargura da
velhice. Colhe, pois, a sabedoria. Armazena suavidade para o
amanhã.”*

Leonardo da Vinci

Sumário

Dedicatória	v
Agradecimentos	vi
Lista de figuras	x
Lista de tabelas	xi
Lista de abreviaturas e siglas	xii
Resumo	xiv
Abstract.....	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Justificativa do estudo	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo principal	3
2.2 Objetivos secundários	3
3. REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1 Apresentação do problema	4
3.2 Evolução da TB-MDR no mundo e no Brasil	5
3.3 Definição e classificação de TB-MDR	8
3.4 Resistência bacilar na TB-MDR	9
3.4.1 Evolução compensatória	10
3.4.2 Infecção mista e reinfecção (exógena ou de reativação)	12
3.5 Diagnóstico da TB-MDR	14
3.5.1 Teste de sensibilidade fenotípico	15
3.6 Tratamento da TB-MDR	17
3.7 Prognóstico da TB-MDR	18
4. MÉTODOS	20
4.1 População de estudo	20
4.1.1 Critérios de inclusão	20
4.1.2 Critérios de exclusão	20
4.2 Delineamento do estudo	21
4.3 Protocolo do estudo	21
4.4 Definições das variáveis e estratificações	22
4.4.1 Variáveis sócio-demográficas	22
4.4.2 Variáveis clínicas	23
4.4.3 Variáveis de resistência	24

4.4.4	Esquemas de Tratamento	25
4.4.5	Variável dependente (desfecho).....	26
4.5	Procedimentos	28
4.5.1	Processamento operacional das amostras.....	28
4.5.2	Testes estatísticos a serem aplicados.....	30
5.	RESULTADOS	32
5.1	Descritiva Geral	33
5.2	Avaliação de acordo com os eventos do desfecho inicial	36
5.3	Avaliação longitudinal: eventos no desfecho inicial em relação aos eventos no desfecho final	47
5.4	Avaliação da resistência bacilar às drogas antituberculose por meio da análise das amostras de escarro coletadas.	48
5.5	Recidiva	50
6.	DISCUSSÃO.....	51
7.	CONCLUSÕES	62
8.	REFERÊNCIAS	63
Anexos		

Lista de figuras

Figura 1 - Casos notificados TB-MDR 1994 a 2011– Brasil	6
Figura 2 - Um sistema epidemiológico para abordagem de pesquisa em TB	9
Figura 3 - Evolução compensatória dos bacilos fármaco resistentes.	11
Figura 4 - Proposta de interação epistásica na resistência da TB droga resistente..	12
Figura 5 - Fluxograma do protocolo de estudo.	21
Figura 6 - Fluxograma da amostra de estudo, TB-MDR ..	32
Figura 7 - Associação do peso inicial dos doentes com TB-MDR em relação aos eventos do desfecho inicial	38
Figura 8 – Associação da hospitalização dos doentes com TB-MDR em relação aos eventos do desfecho inicial..	39
Figura 9 – Associação do número de tratamentos prévios dos doentes com TB-MDR com drogas de 1º linha em relação aos eventos do desfecho inicial	40
Figura 10 – Associação da resistência adquirida e resistência primária dos doentes com TB-MDR em relação aos eventos do desfecho inicial.....	41
Figura 11 – Associação da presença de comorbidade nos doentes com TB-MDR em relação aos eventos do desfecho inicial.....	43
Figura 12 – Associação da distribuição do descritor “cavidade” nos doentes com TB-MDR em relação aos eventos do desfecho inicial	44

Lista de tabelas

Tabela 1 - Características demográficas dos 156 doentes portadores de TB-MDR incluídos no estudo	34
Tabela 2 - Sintomas, sinais clínicos e comorbidades dos doentes portadores de TB-MDR incluídos no estudo	35
Tabela 3 - Características radiológicas dos doentes portadores de TB-MDR incluídos no estudo (n=153)	35
Tabela 4 - Doentes estratificados de acordo com o número de esquemas de tratamentos prévios e esquemas de tratamento para TB-MDR.....	36
Tabela 5 - Características demográficas dos doentes em relação aos eventos no desfecho inicial	37
Tabela 6 - Sintomas, sinais clínicos e comorbidades dos doentes portadores de TB-MDR em relação aos eventos no desfecho inicial	42
Tabela 7 - Características radiológicas dos doentes portadores de TB-MDR incluídos no estudo com relação aos eventos no desfecho inicial	44
Tabela 8 – Análise univariada de fatores demográficos, clínicos e radiológicos associados à cura dos doentes TB-MDR, por regressão logística	45
Tabela 9 - Construção passo a passo do modelo de regressão logística múltipla, de acordo com -2-log-Likelihood e Coeficiente de explicação	46
Tabela 10 - Fatores demográficos, clínicos e radiológicos associados a cura, após 18 meses de tratamento, para os 156 doentes portadores de TB-MDR	46
Tabela 11 - Distribuição dos 156 doentes estudados quanto aos eventos no desfecho inicial em relação aos eventos no desfecho final	47
Tabela 12 - Evolução das classes de multirresistência no acompanhamento evolutivo da coorte (MDR, pré-XDR e XDR) e o evento cura e óbito, no desfecho final	48
Tabela 13 - Resistência do bacilo aos fármacos nas amostras testadas (460 amostras) para cada droga anti-tuberculose de 1ª e 2ª linha	49
Tabela 14 - Desfecho final em relação à variabilidade da resistência ao binômio isoniazida e rifampicina das amostras nos 144 pacientes estudados	49
Tabela 15 - Recidiva dos casos de TB-MDR entre os 85 casos com desfecho cura no evento inicial.....	50

Lista de abreviaturas e siglas

Amica	Amicacina
AntiTB	Antituberculose
E	Etambutol
EB	Esquema básico
EI	Esquema I (Rifampicina+isoniazida+pirazinamida+ etambutol)
EIII	Esquema III (Estreptomicina+etambutol+etionamida+pirazinamida)
EI-R	Esquema IR (Rifampicina+isoniazida+pirazinamida)
I	Isoniazida
ILTB	Infecção latente da tuberculose
LEVO	Levofloxacina
METRO	Metronidazol
MDR	Multidrogarresistente
MIRU-VNTR	<i>Mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat</i>
MS	Ministério da Saúde
<i>M. tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
OFLOXA	Ofloxacina
OMS	Organização Mundial da Saúde
PNCT	Programa Nacional de Controle da Tuberculose
TB	Tuberculose
R	Rifampicina
RI	Binômio rifampicina-isoniazida
RFLP	Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
SPSS	Statistical Product and Service Solution
TB-MDR	Tuberculose multidrogarresistente
TB pré-XDR	Tuberculose pré extensivamente resistente
TB-XDR	Tuberculose extensivamente droga resistente

TDO	Tratamento diretamente observado
TS	Teste de sensibilidade
TZD	Terizidona
Z	Pirazinamida

Drogas anti-TB de primeira (1ª) linha – Rifampicina, isoniazida, etambutol, pirazinamida e estreptomicina.

Drogas anti-TB de segunda (2ª) linha– Levofloxacina, ofloxacina, amicacina, kanamicina, capreomicina, terizidona, clofazimina, etionamida.

Resumo

Objetivo: Identificar fatores preditivos entre variáveis demográficas, clínicas e radiológicas associados aos eventos, cura, abandono, falência e óbito na tuberculose multidrogarresistente após o primeiro tratamento; descrever a variabilidade do padrão de sensibilidade da população bacilífera multidrogarresistente e associar a heterorresistência bacilar ao longo do tempo com os eventos cura, falência e óbito, no desfecho final. **Método:** Estudo observacional do tipo coorte retrospectivo de 2006 a 2010 em uma unidade de saúde em São Paulo, Brasil. Os dados foram obtidos por meio de revisão de prontuários médicos. Os testes de sensibilidade fenotípicos foram realizados no sistema automatizado BACTEC™MGIT™ SIRE kit (SAT/SIRE) e a metodologia de determinação da concentração inibitória mínima, para os fármacos de segunda linha. Heterorresistência fenotípica foi definida quando as amostras de escarro do mesmo doente variaram entre sensível ou resistente, em relação ao binômio Rifampicina/Isoniazida, durante o tratamento da doença multidrogarresistente. **Resultados:** Foram isoladas por meio de teste de sensibilidade fenotípico e elegíveis para o estudo 156 doentes e suas 460 amostras de escarro com presença de bacilos resistentes *in vitro* à rifampicina e isoniazida. Nessa coorte a média de idade foi de 39,5 anos (DP± 12,5), a maioria era de sexo masculino (60%). Dos 85 doentes que curaram após o primeiro tratamento, 89,4% deles apresentaram conversão da cultura entre o primeiro e o sexto mês de tratamento. Em 144 doentes foi possível classificar a resistência bacilar, onde 58% foram considerados como portador de resistência adquirida e 42% foram classificados como resistência primária. Avaliados pela radiografia de tórax, 78% deles apresentaram lesão parenquimatosa bilateral e 39% cavidade bilateral. Pela regressão logística os doentes que se apresentaram com maior peso inicial (RC= 1,05), sem comorbidade (RC= 2,47) e com tuberculose multidrogarresistente primária (RC=2,67) foram associados com cura ao final do primeiro tratamento para TB-MDR. Após o primeiro tratamento de tuberculose multidrogarresistente o evento cura ocorreu em 54% dos doentes e no desfecho final 58%. No evento final 80% dos doentes permaneceram classificados como tuberculose multidrogarresistente e com maior taxa de cura em relação aos que migraram para tuberculose pré extensivamente resistente e tuberculose extensivamente resistente. Houve elevada taxa de resistência bacilar aos fármacos rotineiramente utilizados. A presença de heterorresistência fenotípica ao binômio rifampicina/isoniazida associou-

se aos eventos negativos, falência e óbito. ($p=0,037$). Houve seis (7%) casos de recidiva. **Conclusão:** Maior peso inicial, sem comorbidade e com tuberculose multidrogarresistente primária foram considerados como fatores preditivos associados à cura da tuberculose multidrogarresistente no primeiro tratamento. Na evolução do padrão de resistência ao longo do tempo, observou-se que os doentes que permaneceram tuberculose multidrogarresistente tiveram maior proporção de cura e menor proporção óbito. A presença de heterorresistência fenotípica apresentada pelo binômio rifampicina/isoniazida em relação a todas as amostras de cada paciente se associou aos eventos negativos (falência e óbito).

Abstract

Objective: To identify risk factors among demographic, clinical and radiological variables associated with multidrug-resistant tuberculosis's cure, abandonment, failure and death after the first treatment, describe the variability of the sensitivity pattern of the multidrug-resistant bacillary population and associate bacillary hetero-resistance over time by the drug sensitivity test mean with the events of cure, failure and death.

Method: Retrospective cohort study from 2006 to 2010 at a health unit in São Paulo, Brazil. The data were obtained from medical records. Phenotypic sensibility tests were performed in the automated system BACTEC™MGIT™ SIRE kit (SAT/SIRE) and methodology for determining minimum inhibitory concentration for second line drugs.

Phenotypic heterogeneity was defined when sputum samples from the same patient ranged between sensitive or resistant compared to the binomial Rifampicin / Isoniazid during treatment of disease.

Results: A total of 156 patients and their 460 sputum samples with *in vitro* bacilli resistant to rifampicin and isoniazid were isolated by means of a phenotypic sensitivity test and eligible for the study. In this cohort of patients with MDR-TB, mean age was 39.5 years (SD $\pm$ 12.5), the majority was male (60%). Of the 85 patients cured after the first treatment, 89.4% had conversion of the culture between the first and the sixth month of treatment. It was possible to classify the bacillary resistance in 144 patients, where 58% were considered as of acquired resistance and 42% were classified as of primary resistance. When measured by chest X-ray, 78% had bilateral parenchymal lesion and 39% bilateral pulmonary cavitation. A logistic regression, showed that patients presenting with a greater initial weight (RC = 1.05), without comorbidities (RC = 2.47) and with primary multidrug-resistant tuberculosis (RC = 2.67) were associated with cure at the end of first treatment. Cure occurred in 54% of patients after the first treatment and in 58% at the final outcome. At the final event, 80% of patients remained classified as multidrug-resistant tuberculosis and with a higher cure rate than those who migrated to pre extensively drug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis. There was a high rate of bacillary resistance to the anti-tuberculosis drugs used. The presence of phenotypic hetero-resistance to the binomial rifampicin / isoniazid was associated with negative events, failure and death. (P = 0.037). There were six cases (7%) of relapse. **Conclusion:** High initial weight, no comorbidity and with primary multidrug-resistant tuberculosis were considered as predictive factors associated with multidrug-resistant tuberculosis cure in the first

treatment. In the evolution of the resistance pattern over time, it was observed that patients who remained multidrug-resistant tuberculosis had a higher proportion of cure and a lower death rate. The presence of phenotypic hetero-resistance presented by the binomial rifampicin/isoniazid in relation to all samples from each patient was associated with negative events (failure and death).

1. INTRODUÇÃO

O aparecimento de tuberculose multidrogarresistente (TB-MDR) no mundo tornou-se problema de saúde pública assim os ajustamentos estratégicos para elevar a taxa de cura e as medidas para evitar a disseminação da doença devem ser adotadas rapidamente.⁽¹⁾

A multirresistência bacilar é um fenômeno biológico que pode ser considerado iatrogênico e multifatorial, visto que, a exposição do *Mycobacterium tuberculosis* aos fármacos durante o período de tratamento da doença, provoca pressão seletiva que favorece o desenvolvimento de linhagens bacilares resistentes. Estes bacilos fármaco resistentes surgem após uma sequência de mutações genéticas durante esse processo.⁽²⁾

Os fatores que contribuem para a existência da resistência bacilar são cinco: primeiro um programa deficiente de tratamento de tuberculose e de vigilância epidemiológica; atraso no diagnóstico; baixa porcentagem de cura o que leva a persistência da transmissão; infecção mista; e por último o aumento de indivíduos com infecção latente da tuberculose (ILTb) portador de bacilo resistente que poderão adoecer.

A magnitude do problema no Brasil não é totalmente conhecida, pois a oferta de testes de sensibilidade (TS) fenotípicos aos fármacos antituberculose de primeira e segunda linha não é universal, o que torna difícil uma avaliação global da situação real; mesmo sabendo que nenhum TS fenotípico é completamente acurado⁽³⁾, é indiscutível sua importância.

1.1 Justificativa do estudo

São Paulo é o segundo estado da federação brasileira em número de casos de TB-MDR. No período do estudo, de 2006 a 2010, foram notificados 448 casos, dos quais 175 (39%) foram matriculados e tratados no Instituto Clemente Ferreira, que é um centro de referência ambulatorial da Secretaria de Estado da Saúde em São Paulo.^(4, 5) Importante frisar que os testes de sensibilidade fenotípicos foram realizados

no laboratório de microbiologia do Instituto Clemente Ferreira e Instituto Adolfo Lutz, ambos de referência e mantidos sob rigoroso controle de qualidade.

A complexidade destes doentes associada à dificuldade no manejo, longos períodos de tratamento de menor eficácia, alto custo dos fármacos e deficiente propedêutica diagnóstica, fazem desse processo um enorme desafio. Associado a isso o atraso do diagnóstico de tuberculose multidrogarresistente e controle inadequado da vigilância epidemiológica são motivos pelos quais os doentes recebem inúmeros tratamentos prévios.

O conhecimento das características e peculiaridades dos doentes com TB-MDR, em determinadas regiões do país, constitui uma base de dados importante para a elaboração de novas medidas de controle, diagnóstico e propostas terapêuticas. Portanto, é incontestável, não só no Brasil, a necessidade de pesquisas operacionais para aperfeiçoar o conhecimento e controle dos programas de TB-MDR.

Assim, a proposta deste estudo longitudinal veio no sentido de descrever uma amostra de doentes com TB-MDR tratados no Instituto Clemente Ferreira e relacionar características demográficas, clínicas, radiológicas e respostas aos tratamentos da TB-MDR, além de avaliar a heterogeneidade bacilar fenotípica e suas implicações clínicas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo principal

- Identificar fatores preditivos, entre variáveis demográficas, clínicas e radiológicas associados à cura da TB-MDR após o primeiro tratamento.

2.2 Objetivos secundários

- Avaliar as principais características demográficas, clínicas e radiológicas de acordo com os eventos após o primeiro tratamento para TB-MDR;
- Descrever a variabilidade do padrão de sensibilidade da população bacilífera multidrogarresistente;
 - A evolução do padrão de resistência ao longo do tempo
 - Associação do padrão de resistência com os eventos cura, falência e óbito no desfecho inicial e final.
- Associação da homogeneidade ou heterogeneidade da resistência bacilar ao binômio Rifampicina – Isoniazida.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Apresentação do problema

A tuberculose (TB) permanece um problema de saúde pública de importância global. A Organização Mundial da Saúde (OMS)⁽⁶⁾, em 2014, notificou 9,6 milhões de casos de TB droga sensível e 1 a 1,3 milhões de co-infectados TB-HIV; 1,5 milhão de mortes em doentes HIV negativo e 400.000 mil de mortes em co-infectados TB-HIV, onde 890.000 eram homens, 480.000 eram mulheres e 140.000 eram crianças.

Estes números tão elevados causam um enorme impacto no controle da tuberculose, considerando que estamos diante de uma doença passível de prevenção e cura.

A maioria dos casos de TB (80%) está alocada em 22 países, os quais são considerados prioridade para investimentos em treinamento assistencial e laboratorial, com o objetivo de diagnosticar precocemente e reduzir o número de casos novos. No Brasil foram notificados 71.000 casos novos de tuberculose droga sensível em 2011, o que representou o 16º lugar neste grupo de países acima citado. A taxa de incidência foi de 35,4 casos/100.000 habitantes, que foi uma taxa bastante menor em relação aos outros países incluídos. Embora essa taxa de incidência de casos de tuberculose droga sensível esteja diminuindo progressivamente, isso está acontecendo de forma mais lenta do que se esperava.^(7,8)

O surgimento de cepas resistentes aos fármacos específicos gera formas de tuberculose droga resistente de difícil controle. Os fatores que contribuem para este panorama são especialmente programas de controle da tuberculose deficientes⁽⁹⁾. Pode-se ainda citar o difícil acesso ao sistema de saúde, falta ou atraso no diagnóstico, adesão inadequada ao tratamento, baixa porcentagem de cura que leva a persistente transmissão e aumento dos indivíduos com infecção latente (ILTb) com bacilo resistente que poderão adoecer.⁽¹⁾ Todas estas situações podem ser agravadas pela associação da co-infecção TB-HIV que, no Brasil em 2013, foi de 10,4%.⁽¹⁰⁾

3.2 Evolução da TB-MDR no mundo e no Brasil

No período de 2000 a 2004, o Centro de Controle de Doenças (CDC-USA), em conjunto com a Organização Mundial da Saúde (OMS), analisaram 17.690 amostras de escarro provenientes de diversos países e detectaram o padrão de TB-MDR (definida pela OMS como resistência bacilar *in vitro* à rifampicina e isoniazida) em 20% das amostras e de TB-XDR (definida pela OMS como resistência bacilar *in vitro* à rifampicina e isoniazida associada e resistência bacilar a uma quinolona e a pelo menos uma droga injetável de segunda linha) em 2% delas, o que demonstrou progressão da resistência bacilar. Sabe-se que algumas regiões do mundo, como USA, Coreia do Sul e Letônia, a proporção de TB-XDR pode ser ainda maior, 4%, 15% e 19%, respectivamente.^(11, 12)

A importância clínica desses achados é que casos de tuberculose extensivamente resistente (TB-XDR) dificultam ainda mais o controle da tuberculose, pois têm menor taxa de cura, poucas alternativas terapêuticas, esquemas de tratamento de longa duração (média de 18 meses), maior número de efeitos adversos, fármacos de alto custo e pior prognóstico, principalmente quando associados à infecção por HIV.^(9, 13, 14)

A magnitude do problema não é totalmente conhecida, pois estes números possivelmente permanecem subestimados decorrentes da insatisfatória oferta de TS para diagnóstico.

No mundo, houve aumento no número de casos de TB-MDR tratados em 2011, sendo que um em cada cinco casos de TB-MDR notificados foi tratado. Em 2009 apenas um caso foi tratado em nove notificados. Apesar da melhora do cenário, locais com alta carga de tuberculose podem ainda apresentar resultados piores.⁽¹⁵⁾

Em 2012, a OMS estimou que 3,7% dos casos novos e 20% dos previamente tratados para TB no mundo tratavam-se de TB-MDR.⁽¹⁶⁾ Em algumas regiões, esta proporção foi maior.⁽¹⁷⁾

Dois estudos publicados recentemente demonstraram que o número de casos estimados de TB-MDR foi maior que os casos efetivamente diagnosticados e tratados e que a taxa de cura foi em torno de 50%.^(6, 18)

Um ponto positivo é que a partir de 2016, a OMS implantou um modelo chamado Estratégia *End TB* com objetivos bastante audaciosos para serem

alcançados até 2030, como: redução do número de mortes por tuberculose em 90% em relação à taxa de mortalidade de 2015; diminuição do número de novos casos em 80% e, conseqüentemente, redução da multirresistência, garantindo a todos o fim da sobrecarga provocada pela doença.⁽⁶⁾

O cenário epidemiológico no Brasil em relação às taxas de resistência bacilar às drogas antituberculosas é um pouco mais confortável. O primeiro caso notificado de TB-MDR foi em 1994, mas somente no ano 2000 o Sistema de Vigilância da TB-MDR foi efetivamente implantado pelo Ministério da Saúde.⁽¹⁹⁾ Progressivamente, o número de unidades de atendimento e laboratórios habilitados foram ampliados e o serviço foi se tornando descentralizado.

O Sistema de Vigilância da TB-MDR no período de 2000 a 2006⁽⁵⁾ registrou aumento lento e progressivo de notificações, porém após este período o aumento do número de casos foi mais expressivo. Este fato pode não ser devido apenas à melhora no processo de diagnóstico ou do sistema de notificação, mas provavelmente tenha havido um aumento real de casos. (Figura 1)

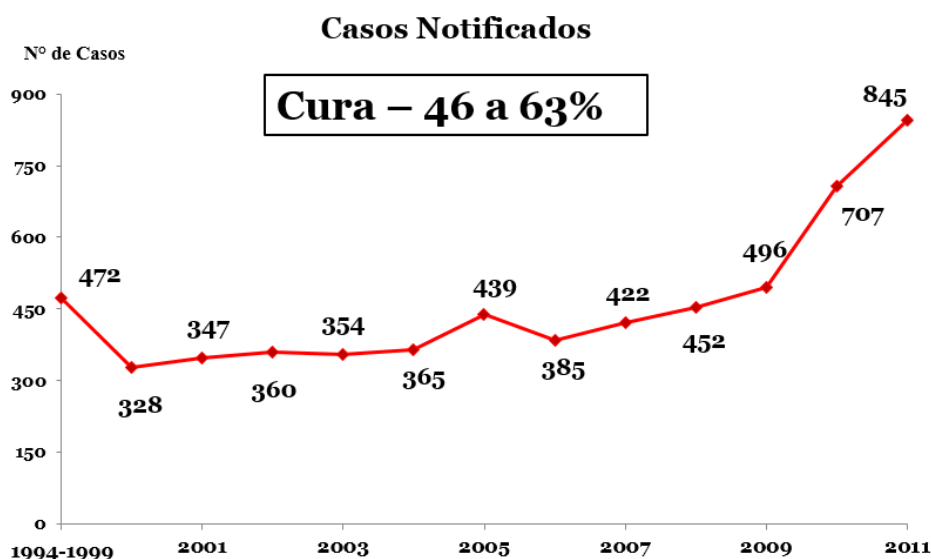


Figura 1 - Casos notificados TMDR 1994 a 2011– Brasil. (4, 5)

Para melhor acompanhar a evolução da TB-MDR foram necessárias mudanças no sistema de informação,⁽¹⁰⁾ e nesse sentido, em 2013 foi implantado o Sistema de Informação de Tratamentos Especiais de Tuberculose, (SITE-TB)⁽⁴⁾ que hoje é a

principal ferramenta responsável pela vigilância epidemiológica dos casos de TB-MDR no Brasil.

No Brasil também foi observado aumento da proporção de casos novos de TB-MDR / TB bacilo sensível, de 0,45% (354/78.606) em 2003⁽⁸⁾ para 0,73% (525/71.123) em 2013.⁽²⁰⁾ Lembrando que nessa situação a subnotificação não pode ser descartada uma vez que não há oferta universal de TS para todos os casos de tuberculose.^(21, 10) Embora haja recomendação do Programa Nacional de Controle da Tuberculose (PNCT) que em casos de retratamento, a cultura e TS fenotípico devam ser realizados, nem sempre esta norma é considerada, como foi demonstrado em dados apresentados no Quadro 1.

Quadro 1 – Indicadores operacionais e epidemiológicos do controle da tuberculose nas Unidades da Federação e suas respectivas capitais. Brasil, 2014

Unidade da Federação	Realização de cultura de escarro entre os casos de retratamento (%)	Capitais brasileiras	Realização de cultura de escarro entre os casos de retratamento (%)
Roraima	50	Boa Vista	100
Amazonas	14	Manaus	16,1
Ceará	20,1	Fortaleza	11,2
Distrito Federal	15,4	Brasília	15,4
Minas Gerais	16,6	Belo Horizonte	12,5
Rio de Janeiro	12,3	Rio de Janeiro	39,5
São Paulo	56,3	São Paulo	53,6
Rio Grande do Sul	28	Porto Alegre	39,5

Fonte: Sistema de Informação de Agravos de Notificações (SINAN). Dados referentes ao ano de 2013⁽¹⁰⁾

Interessante frisar que no Boletim Epidemiológico de 2015 houve relato de diminuição dos casos notificados de TB-MDR apesar da maior oferta de TS. As razões para explicar este fato não estão claras.⁽¹⁰⁾

Torna-se evidente a necessidade de permanente e rigoroso monitoramento dos casos de TB-MDR para entender a dinâmica desta doença e programar medidas adequadas.⁽²¹⁾

3.3 Definição e classificação de TB-MDR

A resistência pode ser classificada de duas formas, primeiro, quanto ao número de fármacos aos quais o bacilo é resistente:^(1, 21)

1. Monorresistência - resistência *in vitro* a somente um fármaco de 1ª linha,
2. Polirresistência - resistência *in vitro* a dois ou mais fármacos de 1ª linha exceto a combinação de isoniazida e rifampicina.
3. Multirresistência (TB-MDR) - resistência *in vitro* para os efeitos da isoniazida e rifampicina, com ou sem resistência a qualquer outro fármaco de 1ª linha.
4. Resistência extensiva (TB-XDR) - resistência à rifampicina e isoniazida associada à resistência a uma quinolona e a uma droga injetável de 2ª linha (amicacina, kanamicina e capreomicina)

E segundo, de acordo com o mecanismo pelo qual a resistência do *M. tuberculosis* se instalou:⁽²¹⁾

1. Resistência natural – ocorre naturalmente no processo de multiplicação do bacilo.
2. Resistência Primária – verifica-se em pacientes nunca tratados para TB, infectados por bacilos previamente resistentes.
3. Resistência secundária ou adquirida – verifica-se em pacientes com TB inicialmente droga sensível, que se tornaram resistentes após a exposição aos medicamentos.

Melhorar a compreensão dos mecanismos da resistência do *M. tuberculosis* aos fármacos antituberculose é fundamental para o desenvolvimento de novas estratégias de controle da doença.

Para uma avaliação holística do doente o ideal seria analisar seu *status* imune, a susceptibilidade genética do bacilo, o custo adaptativo do bacilo resistente, sua virulência e transmissibilidade. Isto é possível por meio de sistema biológico, que é uma ferramenta que combina modelo matemático e computacional para compreender, explicar e prever um fenômeno biológico em que há uma interação dinâmica de mais de um componente ao longo do tempo e, inclusive, pode ser aplicado para o estudo da evolução da infecção latente da tuberculose (ILTB)^(7, 22, 23) (Figura 2)

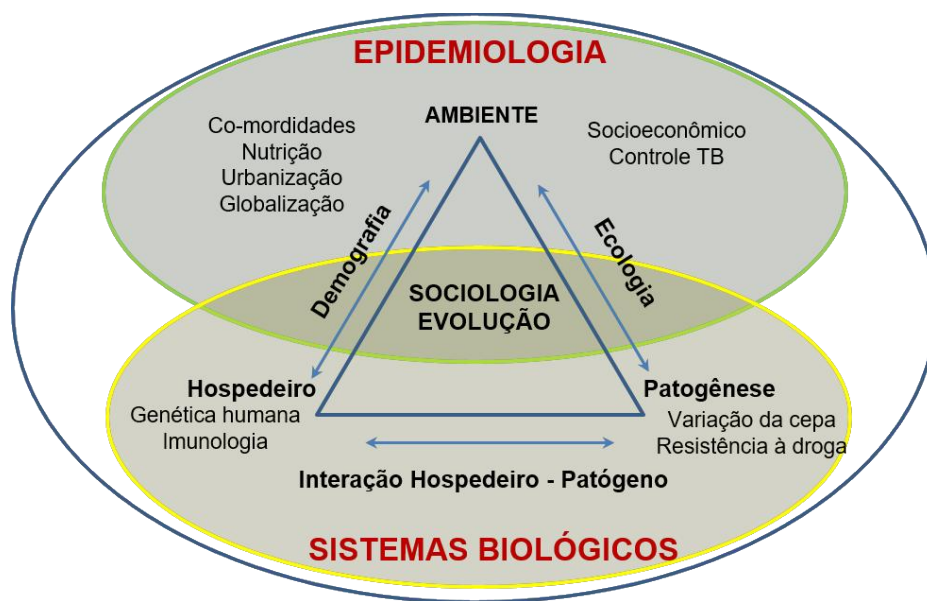


Figura 2 - Sistema epidemiológico para abordagem de pesquisa em TB. ⁽²⁴⁾

3.4 Resistência bacilar na TB-MDR

O conhecimento do mecanismo de resistência do *M. tuberculosis* às drogas antituberculosas melhoraram a partir do sequenciamento do genoma do bacilo e de outras ferramentas moleculares. ⁽²⁵⁾

Análises genéticas e moleculares de bacilos resistentes sugerem que a resistência é usualmente adquirida por alterações no alvo do fármaco com mutações cromossômicas no gene da micobactéria. ⁽²⁶⁾

Durante a exposição do *M. tuberculosis* ao fármaco, existe uma pressão seletiva sobre o bacilo sensível que evolui para um bacilo mutante resistente podendo implicar na redução de sua capacidade de sobreviver e reproduzir-se. ⁽²⁷⁾

Outro conceito bem estabelecido é a existência do fenômeno da heterorresistência do *M. tuberculosis*. Este fenômeno pode ser considerado um estágio preliminar da resistência completa e o impacto disto nos resultados clínicos ainda não foi esclarecido. ⁽²⁸⁻³³⁾

Melhorar a compreensão dos mecanismos da resistência do *M. tuberculosis* às drogas antituberculose é decisivo para o desenvolvimento de novas ferramentas para vencer esta doença tão complexa.

Métodos genotípicos têm permitido confirmar a existência simultânea de diferentes bacilos inclusive no mesmo episódio da doença ou em outro episódio por reinfeção exógena.⁽³³⁻³⁵⁾

Portanto a diversidade bacilar pode ser explicada por dois mecanismos: evolução compensatória por pressão dos fármacos sobre o bacilo e infecção mista.

3.4.1 Evolução Compensatória

Como foi anteriormente descrito, durante a exposição do *M. tuberculosis* aos fármacos, existe uma pressão seletiva sobre bacilo resistente mutante, o que pode levar a redução de sua capacidade de sobreviver, de reproduzir e mesmo na sua virulência. Isto é chamado de custo adaptativo; porém novas mutações podem acontecer possibilitando a melhora ou até a total restauração da aptidão bacilar, a esse fenômeno dá-se o nome de evolução compensatória.^(27, 36) (Figura 3)

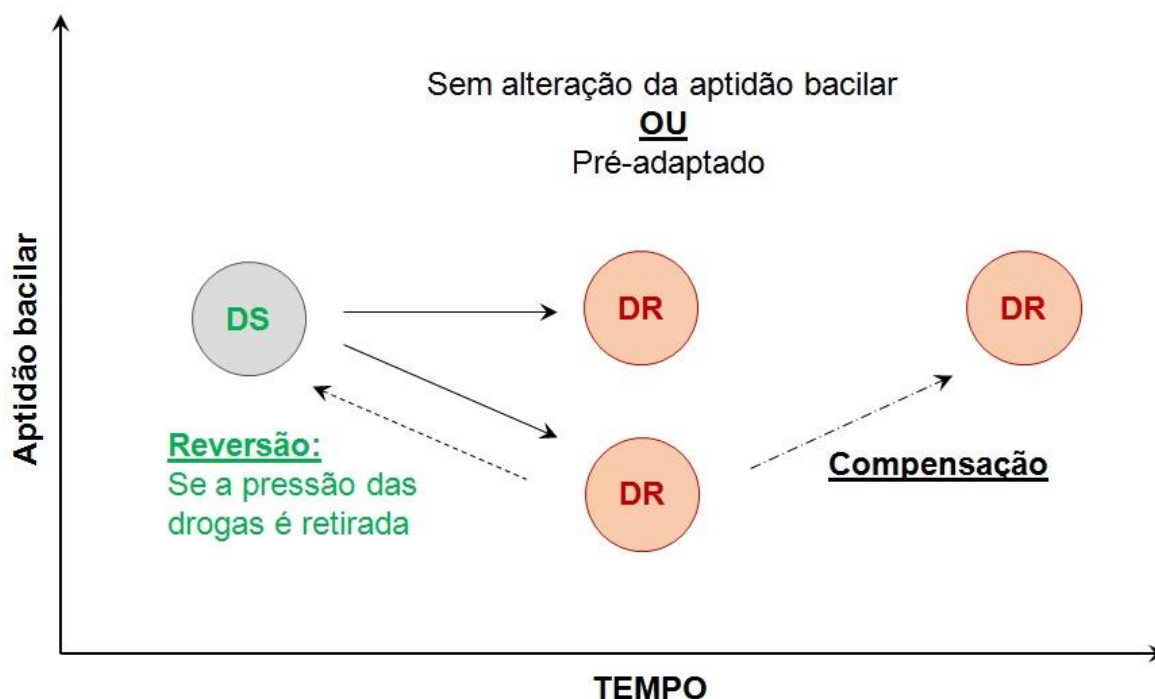


Figura 3 - Evolução compensatória dos bacilos fármaco resistentes.⁽²⁷⁾
DS - droga sensível; DR – droga resistente.

O custo adaptativo do bacilo é determinado pela mutação específica que determina a resistência bacilar e pelos antecedentes genéticos da cepa do *M. tuberculosis*. Este fenômeno explica o que foi demonstrado por Ganeaux e cols. em estudo com bacilos isolados de doentes em tratamentos prolongados; os autores observaram que muitas das cepas mutantes apresentaram baixa ou nenhuma perda do fenômeno custo adaptativo.⁽³⁷⁾

A evolução compensatória gera heterorresistência, que pode ser definida como coexistência de cepas sensíveis e resistentes no mesmo doente, originárias de uma única linhagem bacilar. Devido a esse padrão de evolução, nos doentes com tratamentos prévios ou falência de tratamento, esta ocorrência poderia servir como marcador de tratamento para os programas de tuberculose, no futuro.⁽²⁸⁾

Desta forma, cria-se um bacilo complexo, capaz de ter sucesso na transmissão e neste estabelecer a infecção, multiplicação e replicação.

Além disso, outro fenômeno tem sido reconhecido, a epistasia,^(38, 39) que é definida como o efeito da interação entre duas ou mais mutações com interferência no fenótipo do bacilo. (Figura 4)

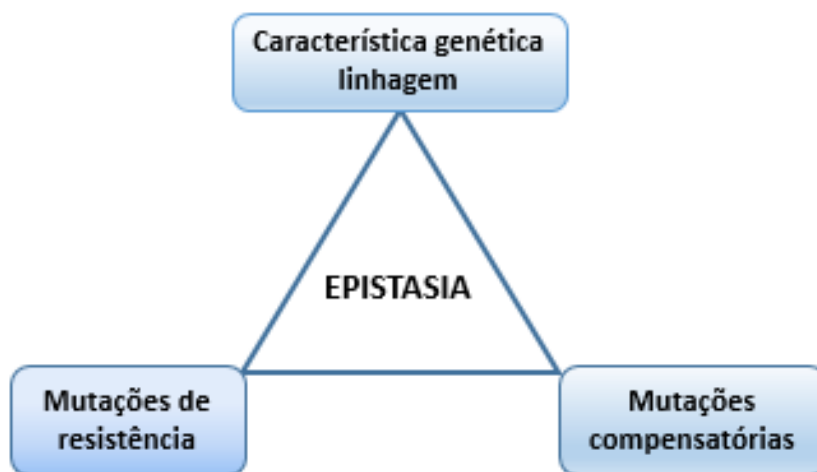


Figura 4 – Proposta de interação epistática na resistência da TB drogarresistente.⁽³⁹⁾

Deve-se considerar estes fatos na interpretação e utilização dos testes fenotípicos e moleculares na rotina clínica.^(36, 40, 41)

3.4.2 Infecção mista e reinfecção (exógena ou de reativação)

Diferenciar uma infecção mista de reinfecção só é possível por meio de genotipagem bacilar realizada nos bacilos de episódios prévios de TB e nos bacilos do episódio atual da doença tuberculosa.

Infecção mista é confirmada pela presença de duas cepas geneticamente distintas em cultura do escarro realizada antes de iniciar o tratamento. Alguns autores consideram infecção mista a presença de cepas com diferentes genótipos por variação natural da população bacilar combinada à pressão seletiva dos fármacos conduzindo à microevolução da cepa original no mesmo hospedeiro.⁽⁴²⁻⁴⁴⁾

Reinfecção é confirmada pela presença de duas cepas geneticamente diferentes em culturas seriadas durante o tratamento. A reinfecção pode ser exógena ou de reativação endógena.^(31, 45)

Alguns doentes abrigam populações mistas com cepas resistentes ou sensíveis, fenômeno conhecido com heterorresistência, que pode ser detectada por meio de TS fenotípicos ou genotípicos.^(30, 33, 46) A heterorresistência bacilar pode

influenciar a sensibilidade dos TS moleculares em detectar pequenas populações de bacilos droga resistentes.⁽⁴⁷⁾

A presença de infecção mista ou heterorresistência pode explicar a divergência entre os TS fenotípicos e o resultado das mutações, como também é a razão para justificar as mudanças do padrão dos TS. Estas discrepâncias podem aumentar de acordo com o método utilizado ou mesmo por contaminação.^(48, 49) Pequeno número de cepas resistentes pode não ser detectado por métodos genotípicos devido ao maior crescimento das cepas sensíveis em meio livre de fármacos. Possivelmente infecções mistas ou reinfeção exógena aumentam a dificuldade de diagnóstico e tratamento.^(31, 33, 50)

A taxa de infecção mista pode variar de 1-19% em locais com alta incidência de TB.^(35, 51, 52) Em Shangai, cidade com incidência de TB de 38 casos/100.000 habitantes,^(53, 54) foi encontrada maior taxa de infecção mista especialmente nos casos de retratamento.

De fato, local de alta incidência de tuberculose facilita a possibilidade de se encontrar reinfeção exógena, mas é importante referir que fatores sociais e risco biológico também interferem neste processo.⁽⁵⁵⁾ Porém, em locais com baixa incidência de tuberculose, as recidivas são geralmente devido a reativação de infecção latente, muito embora um estudo na Dinamarca relatou um cluster comprovadamente de reinfeção exógena, em uma casa de repouso para idosos.^(56, 57)

Outro ponto interessante a ser considerado é a observação de Ted Cohen e cols, em 2011, em estudo de população com alta prevalência da co-infecção TB-HIV na África do Sul, que identificaram infecção mista e heterogeneidade clonal e consideraram que a co-infecção pode ser um fator de risco para heterogeneidade.⁽⁵⁸⁾ Infecções mistas podem, inclusive, reduzir a sensibilidade do teste molecular como gene Xpert MTB/RIF.⁽³³⁾

Existe uma associação clara entre as diferentes linhagens do *M. tuberculosis* e algumas regiões geográficas. Sabe-se também que diferentes linhagens podem ter diferentes efeitos sobre a transmissão, sobre a gravidade da doença e uma linhagem mais transmissível frequentemente é mais virulenta,^(59, 60) muito embora a linhagem do bacilo em determinada região pode ser alterada quer pela alteração dos padrões de migração ou pela introdução de cepas mais transmissíveis na população.⁽⁶¹⁾

Desta forma, é importante conhecer as características das linhagens do *M. tuberculosis* mais frequentes no Brasil e em suas diferentes regiões e relacioná-las a clínica, tratamento e desfechos. Inúmeros trabalhos demonstraram que a linhagem mais frequente no Brasil é Latin-American Mediterranean (LAM).^(34, 62, 63)

3.5 Diagnóstico da TB-MDR

Testes de sensibilidade às drogas antituberculose são indispensáveis tanto para o diagnóstico de TB-MDR como para o manuseio clínico associado a dados epidemiológicos, história medicamentosa, sinais e sintomas.^(64, 65)

A OMS relatou que, no mundo, o teste para diagnóstico de resistência do bacilo da tuberculose foi realizado em apenas 58% dos doentes previamente tratados de TB e em 12% dos casos novos.⁽⁶⁾ Devido a isso, perde-se a possibilidade de garantir diagnóstico correto e precoce da multidrogarresistência bem como do tratamento adequado destes doentes.⁽⁶⁾

Há uma variedade de métodos, fenotípicos e genotípicos, para determinar a sensibilidade do *M. tuberculosis* às drogas antituberculose, porém nenhum deles é perfeito e muitas vezes os resultados não são compatíveis com a evolução clínica do doente.

Dentre os fármacos testados regularmente, os únicos que têm comprovadamente alta confiabilidade e reprodutibilidade são os TS fenotípicos para avaliar resistência à rifampicina e isoniazida.⁽⁶⁶⁾ Na dependência do fármaco estudado, o nível de discordância entre TS fenotípicos e moleculares pode ser elevado.^(2, 36, 67) As evidências atuais são insuficientes para esclarecer estas discrepâncias.

Novas tecnologias, empregando testes moleculares, estão sendo implantadas, inclusive no Brasil desde 2014, buscando maior rapidez no diagnóstico. Entre elas pode-se citar o teste molecular rápido, Xpert/RIF MTB, que possibilita identificar de forma rápida a presença de *M. tuberculosis* e identificar a existência de resistência à rifampicina, que é o principal fármaco indicador de TB-MDR. O Xpert/RIF MTB tem sensibilidade de 90% e especificidade de 99%.⁽¹⁰⁾

O Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil tem como norma de investigação diagnóstica solicitar baciloscopia, cultura, identificação e teste de sensibilidade somente para:⁽²¹⁾

1. Todo doente que retorna ao sistema após abandono;
2. Contatos de casos de tuberculose droga resistente;
3. Doentes com antecedentes de tratamento prévio, independentemente do tempo decorrido;
4. Doentes imunodeprimidos, principalmente portadores do vírus HIV;
5. Doente com baciloscopia positiva no final do 2º mês de tratamento com esquema básico (EB);
6. Falência ao tratamento anti-TB com EB;
7. Em investigação de populações com maior risco de albergarem cepa de *M. tuberculosis* resistente (profissionais de saúde, população de rua, privados de liberdade, doentes internados em hospitais que não adotam medidas de biossegurança e instituições de longa permanência) ou com difícil abordagem subsequente (indígenas).

3.5.1 Teste de sensibilidade fenotípico

Testes de sensibilidade fenotípicos para micobactéria avaliam a habilidade dos bacilos crescerem em cultura na presença de antibióticos, em meio sólido ou líquido.

Os TS mais utilizados são três: o método das proporções em meio sólido, de Löweinstein-Jensen, o método automatizado BACTEC™MGIT™SIRE kit (SAT/SIRE) em meio líquido 7H9 seguindo o mesmo princípio do método das proporções e a metodologia de determinação da concentração inibitória mínima (CIM) para fármacos alternativos para o tratamento de TB-MDR.⁽⁶⁸⁾

O método das proporções em meio sólido de Löweinstein-Jensen é baseado na premissa que se menos de 1% dos bacilos de uma dada população é resistente ao fármaco na concentração crítica, a população como um todo será considerada sensível. Se mais de 1% dos bacilos de uma dada população é resistente, a população como um todo será considerada resistente.^(36, 69, 70) O teste de sensibilidade fenotípico pelo método automatizado BACTEC™MGIT™SIRE kit (SAT/SIRE) embora seja um

teste de diagnóstico rápido tem algumas limitações técnicas, como necessidade de pessoal altamente qualificado, laboratórios com elevado controle de biossegurança, e isso pode ser fator de restrição para o uso universal dessa técnica, especialmente em países com recursos limitados.⁽⁷¹⁾

Estudo realizado em laboratório do centro de referência de tuberculose em São Paulo demonstrou resultados semelhantes à literatura mundial, no qual o método automatizado BACTEC™MGIT™, além de apresentar maior especificidade e sensibilidade, também teve o tempo para detecção do crescimento da micobactéria significativamente menor (10,5 dias x 34,7 dias) em relação ao método das proporções em meio sólido de Löweinstein-Jensen, muito embora a contaminação tenha sido mais elevada no BACTEC™MGIT™.⁽⁴⁸⁾ É indiscutível a vantagem do método BACTEC™MGIT™ em encurtar o tempo de detecção bacilar, porém devido a essa rapidez é possível deixar de detectar bacilos que sejam resistentes à rifampicina, pois estes podem necessitar de mais tempo para crescerem.^(2, 71)

Além disso, a concentração crítica que define a resistência é muitas vezes próxima da concentração inibitória mínima (CIM) necessária para alcançar a atividade anti-microbacteriana, aumentando a probabilidade de classificação errada da sensibilidade ou resistência e conduzindo a uma reprodutibilidade fraca dos resultados do TS fenotípico. No método das proporções ou no sistema BACTEC as concentrações dos fármacos são pontuais, não permitindo desta forma a obtenção exata do valor de CIM.

A CIM é determinada como a menor concentração do fármaco capaz de inibir 90% da proliferação bacteriana *in vitro*, utilizando o revelador *Alamar Blue*, que é substituído pelo reagente resazurina no método REMA.⁽⁷²⁾ Este método classifica as cepas como sensíveis (quando o valor de CIM é menor ou igual ao valor do ponto de corte) e resistentes (quando o valor de CIM é maior que o valor do ponto de corte) para cada um dos fármacos. A técnica do REMA demonstrou ser um teste rápido, sensível e específico para determinar o perfil de resistência dos isolados clínicos de *M. tuberculosis* frente à INH e RMP, com excelente correlação com o sistema BACTEC™ MGIT™ 960 e que pode evitar que cepas de sensibilidade limítrofe sejam erroneamente interpretadas.⁽⁷³⁾

A OMS em 2006 referiu que o TS que evidencia sensibilidade aos fármacos apresenta um resultado mais fidedigno do que quando o teste demonstra resistência

ao mesmo fármaco; portanto, quando os resultados são discrepantes, eles devem ser interpretados com cuidado.⁽⁷⁾ É indispensável conhecer as limitações dos testes de sensibilidade a fim de utilizá-los da forma mais adequada.

Da mesma forma, em países com prevalência de resistência bacilar menor que 10%, situação na qual o Brasil se inclui, o resultado do tratamento de cepas resistentes é menos previsível do que aquele de tratamento de bacilos sensíveis.⁽²⁾

O TS fenotípico ainda é considerado o padrão ouro pelos especialistas, independentemente de suas reconhecidas limitações, mas nem sempre corresponde a resposta clínica ao tratamento.⁽³⁶⁾

3.6 Tratamento da TB-MDR

Evitar a ampliação da resistência é o princípio mais importante do tratamento da TB.^(74, 75) Caso um regime de tratamento inadequado for administrado, permite-se que uma cepa resistente ao fármaco se torne a linhagem dominante e pode assim induzir resistência ao novo fármaco.^(2, 3, 36, 76)

Para compor um esquema adequado para TB-MDR deve-se considerar:

1. Utilização de quatro fármacos com atividades efetivas e que, preferencialmente, não tenham sido utilizados anteriormente;
2. Muitos doentes com TB-MDR têm resistência a outros fármacos além da rifampicina e isoniazida;
3. Disponibilidade limitada de novos fármacos;
4. Limitações dos testes de sensibilidade quanto à acurácia e sua associação com resultado de tratamento.

Na rotina clínica, o manual brasileiro de recomendações para o controle da tuberculose⁽²¹⁾ recomenda a estratégia de tratamento padronizado e associado ao tratamento diretamente observado (TDO) para garantir seu sucesso. Tratamentos individualizados são indicados em casos especiais, de acordo com a avaliação de profissional especialista no manuseio da doença.⁽¹⁸⁾

O esquema terapêutico padronizado para TBMR no Brasil era composto por Amicacina, Ofloxacino, Etambutol, Clofazimina, Terizidona. A partir de maio de 2005,

por recomendação da OMS, foi suspenso o uso da Clofazimina para tuberculose, pois seria utilizada apenas no tratamento de hanseníase. Assim, a escolha da quinta droga ficou para decisão de cada serviço. Hoje, esta droga novamente está disponibilizada como droga de segunda linha.⁽⁷⁷⁾

Apenas partir de 2009 optou-se definitivamente pelo uso de pirazinamida como a quinta droga com algumas ressalvas, como presença de resistência à pirazinamida por meio do TS ou seu uso por duas ou mais vezes em esquemas anteriores.⁽⁵⁾

Em publicação recente da OMS, de 2015, oito novos fármacos e alguns outros antigos estão em fase de ensaio clínico como drogas anti-TB.⁽⁶⁾ O uso de bedaquilina (2013) e delamanid (2014) estão sob orientações provisórias. O Comitê Brasileiro de Direção da Tuberculose aprovou o uso de Bedaquilina para uso em casos especiais de TB-MDR e TB-XDR, no entanto, ainda não houve aprovação da agência reguladora (ANVISA). Novas orientações de tratamento foram publicadas recentemente pela OMS.

Dois recentes estudos observacionais na Nigéria e Camarões estão sendo avaliados quanto à efetividade de um esquema de tratamento curto de 9-12 meses para casos de TB-MDR sem uso prévio de drogas de 2º linha. Este esquema tem sido efetivo e bem tolerado com possível expansão de seu uso em 2016.⁽⁶⁾

3.7 Prognóstico da TB-MDR

Doentes infectados com cepas resistentes a múltiplos fármacos têm menor probabilidade de cura, particularmente se estão infectados também pelo vírus HIV ou sofrem de outra imunopatia.

Inúmeras vezes os esquemas de tratamento utilizados geram muitos efeitos adversos que necessitam substituição de fármacos, o que pode levar ao uso de esquemas mais inadequados. No Brasil, os melhores resultados chegam a 70% de cura.⁽²¹⁾ No mundo, a taxa de cura é ao redor de 50%; porém alguns países, mesmo com alta carga de TB-MDR, atingiram 75% de cura.⁽⁶⁾

Na última publicação feita pelo MS em 2014 a taxa de cura foi de 58%, falência 6,3%, abandono 17,7% e óbitos 10,6%. O elevado número de óbitos e de abandonos

evidencia que é complexo o manejo clínico desses casos e que ainda são grandes os desafios para o controle da tuberculose resistente no país.⁽¹⁰⁾

O prognóstico dos casos de TB-XDR é pior principalmente se associado à co-infecção TB-HIV. Este cenário ruim deve-se a poucas alternativas terapêuticas, esquemas de longa duração (em média de 18 meses) e de alto custo e associados a efeitos adversos com consequentemente menor taxa de cura.^(9, 13, 14)

4. MÉTODOS

4.1 População de estudo

No período de janeiro de 2006 a dezembro de 2010, 156 prontuários de doentes que tiveram comprovação através de teste de sensibilidade fenotípico com padrão de tuberculose multidrogarresistente (TB-MDR), segundo definição da OMS,⁽⁷⁸⁾ foram acompanhados e tratados adequadamente no ambulatório do Instituto Clemente Ferreira.

Este projeto de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de São Paulo e foi conduzido de acordo com os princípios éticos presentes na Declaração de Helsinque. (Número do Parecer: 638.958, com data da relatoria: em 30/04/2014; assinado pelo Prof. Dr José Osmar Medina Pestana). (Anexo1)

4.1.1 Critérios de inclusão:

- Idade superior a 18 anos;
- Ambos os sexos;
- Diagnóstico de TB-MDR pelo critério da OMS;⁽⁷⁸⁾
- Estar em tratamento para TB-MDR no Instituto Clemente Ferreira.

4.1.2 Critérios de exclusão:

- Uso prévio de quinolona em tratamento de TB;
- Resistência inicial a uma quinolona;
- Resistência inicial a um fármaco injetável de 2º linha;
- Micobactérias não-tuberculosas;

4.2 Delineamento do estudo

Estudo observacional do tipo coorte retrospectivo aninhado em um banco de dados estruturado para acompanhamento de doentes adultos, portadores de TB-MDR.

4.3 Protocolo do estudo

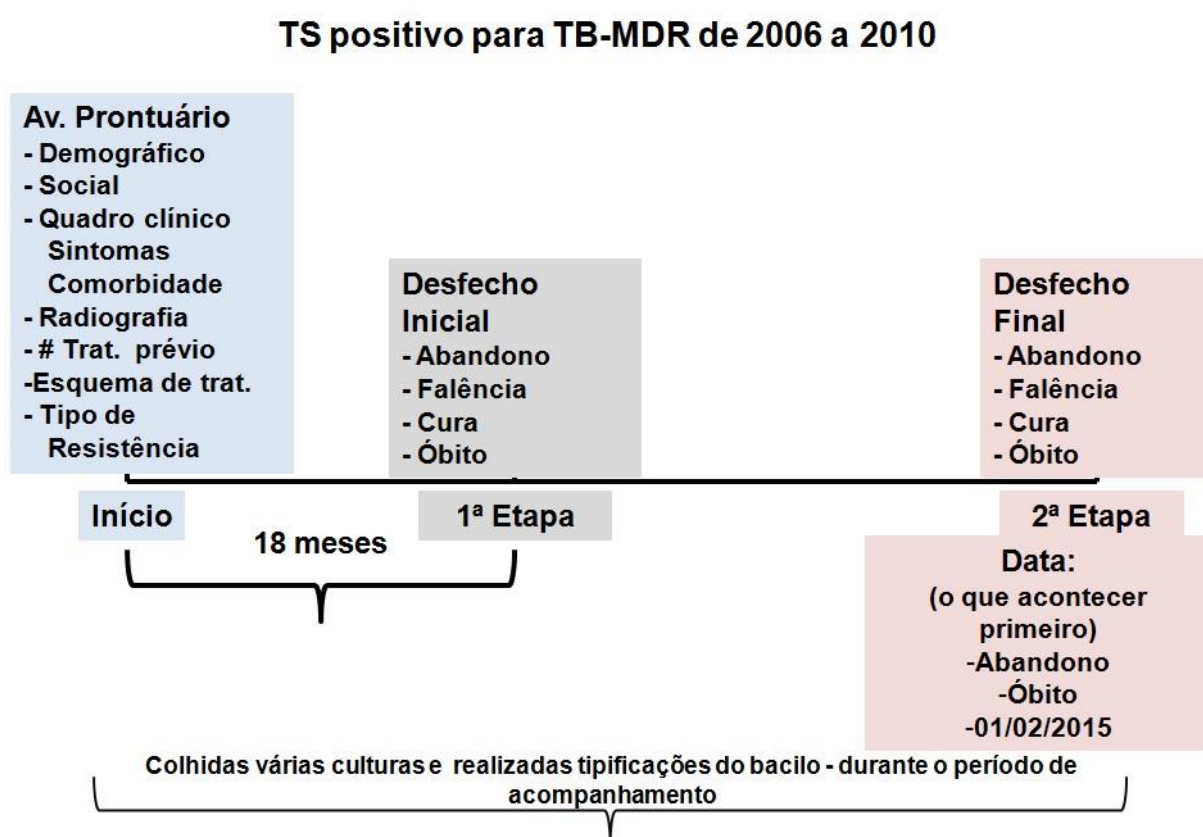


Figura 5 - Fluxograma do protocolo de estudo. TS – Teste de sensibilidade; TB-MDR – tuberculose multidrogarresistente; Av. - avaliação; # - número; Trat. – Tratamento.

Os prontuários foram identificados a partir da data do teste de sensibilidade com padrão MDR, notificados no período de 2006 e 2010.

Na avaliação do prontuário médico foram anotadas variáveis demográficas como sexo, idade no momento do TS positivo para TB-MDR, idade do início da

doença tuberculose, procedência do doente, presença de hospitalização; variáveis sociais como privação de liberdade, em situação de rua; história clínica como intervalo de tempo entre o 1º episódio de tuberculose e o surgimento da TB-MDR (tempo de tísica-TBMDR), número de renotificações de TB-MDR, contatos com tuberculose (sensível ou resistente), resistência primária e adquirida. Em relação aos dados clínicos foram anotados sintomas, peso inicial, perda de peso, presença de comorbidades, alterações observadas em radiografia de tórax, número de tratamentos prévios e esquema de tratamento.

Foram também devidamente anotados os resultados das culturas, dos TS fenotípicos e identificação da micobactéria por método fenotípico ou molecular, durante todo o tempo de acompanhamento, sem periodicidade pré-estabelecida.

Ao final do primeiro tratamento de TB-MDR, isto é, 18 meses, foram avaliados os eventos do desfecho inicial: abandono, falência, cura, óbito. Todos os doentes foram acompanhados até o evento final, o qual foi definido pela data do óbito, data do abandono, data da falência, data da cura ou até 01/02/2015, prevalecendo a primeira ocorrência, por meio de prontuário médico ou consulta ao site da TB-WEB.⁽⁷⁹⁾

4.4 Definições das variáveis e estratificações

4.4.1 Variáveis sócio-demográficas

- Sexo: estratificado em feminino/masculino;
- Idade: em anos;
- Idade do primeiro diagnóstico de tuberculose em anos;
- Procedência categorizada em: região metropolitana de São Paulo; ou outros municípios do estado de São Paulo;
- Ocorrência de hospitalização;
- Ocorrência de privação de liberdade;
- Em situação de rua;
- Número de tratamentos prévios ao diagnóstico de TB-MDR;

- Tempo para a negativação da baciloscopia de escarro, em meses;
- Tempo de acompanhamento, em meses;
- Número de renotificações;
- Contato com tuberculose classificada em: sem contato anterior, contato com TB droga sensível ou contato com TB-MDR.

4.4.2. Variáveis clínicas

- Presença de sintomas:
 - Febre definida com temperatura axilar maior ou igual a 37,8°C
 - Tosse;
 - Expectoração;
 - Hemoptise.
- Comorbidade: (ausência/presença)
 - *Diabetes mellitus* (ausência/presença);
 - HIV: (ausência/presença/não realizado);
 - Hepatite: (ausência/presença).
- Delta peso ou perda de peso: definido como a diferença entre a medição do peso na primeira consulta (peso inicial) e o peso anterior relatado pelo doente. Foi estratificado em:
 - Sem perda de peso;
 - Perda até 5kg;
 - Perda > 5kg.
- Tempo de tísica-MDR: diferença de tempo entre a data do diagnóstico da TB droga sensível até data de diagnóstico da TB-MDR.
- Data do final de acompanhamento:
 - Data do óbito, data do abandono, data da falência, data da cura ou até 01/02/2015, prevalecendo a primeira ocorrência, por meio de prontuário médico ou consulta ao site da TB-WEB.

- Número de tratamentos anteriores realizados com drogas de primeira linha (rifampicina, isoniazida, etambutol, estreptomicina) estratificados em quatro níveis:
 - Sem tratamento prévio;
 - 1 tratamento prévio;
 - 2 tratamentos prévios;
 - 3 ou mais tratamentos prévios.
- Radiografia de tórax foram observados dois aspectos:
 - Lesão parenquimatosa categorizada como:
 - Unilateral;
 - Bilateral.
 - Cavitação categorizada em:
 - Sem cavitação;
 - Cavitação unilateral;
 - Cavitação bilateral.

4.4.3 Variáveis de resistência

- Resistência bacilar após observar os registros em prontuário médico, foi categorizada em:
 - Resistência primária: definida como resistência bacilar em doentes nunca tratados para TB, ou tratados por menos de 30 dias, e infectados por bacilos previamente resistentes⁽²¹⁾ ou ainda doentes nunca tratados para TB, que iniciaram tratamento com esquema básico supondo-se TB por bacilos sensíveis às drogas de 1º linha, porém não curaram apesar de boa adesão, com posterior confirmação da resistência bacilar por meio de TS fenotípico de padrão TB-MDR, em amostra colhida antes de iniciar o tratamento;^(3, 80)

- Resistência adquirida: definida em doentes com TB inicialmente droga sensível, que se tornaram resistentes após a exposição aos fármacos.⁽⁷⁸⁾
- Resistência bacilar em relação aos fármacos: definida após avaliação de todas as amostras de cada doente e usando para classificação do doente a resistência mais estendida:
 - TB-MDR - resistência bacilar *in vitro* à rifampicina e isoniazida;⁽⁷⁸⁾
 - TB pré-XDR - resistência bacilar *in vitro* à rifampicina e isoniazida acrescida de resistência a uma quinolona ou a uma droga injetável de 2º linha (amicacina, kanamicina ou capreomicina);⁽⁸¹⁻⁸³⁾
 - TB-XDR resistência bacilar *in vitro* à rifampicina e isoniazida associada à resistência a uma quinolona e a uma droga injetável de 2º linha (amicacina, kanamicina e capreomicina).⁽⁷⁸⁾
- Resistência bacilar *in vitro* ao binômio Rifampicina-Isoniazida foi classificada conforme a variabilidade da resistência nas diversas amostras de cada doente. Portanto para esta análise foi possível incluir apenas doentes que tinham realizado, pelo menos, dois ou mais TS fenotípico. Assim temos:
 - Resistência fenotípica homogênea: quando todas as amostras do mesmo doente foram resistentes ao binômio Rifampicina/Isoniazida;
 - Resistência fenotípica heterogênea ou heterorresistência fenotípica: quando as amostras de escarro do mesmo doente variaram entre sensível ou resistente em relação à dupla Rifampicina/Isoniazida.^(32, 33)

4.4.4 Esquemas de Tratamento

- Tratamento para TB-MDR: padrão ou clássico é um esquema terapêutico planejado para 18 meses e composto por três fases, como descritas a seguir:
 - 1º fase intensiva: dois meses de S ou AM de 2ª a 5ª-feira + LEVO ou OFLOXA, E, TZD, Z;

- 2º fase intensiva: quatro meses de S ou AM de 2ª, 4ª e 6ª-feira + LEVO ou OFLOXA, E, TZD, Z;
 - Fase de manutenção: 12 meses de LEVO ou OFLOXA, E, TZD, Z.⁽¹⁰⁾
- Esquema alternativo para TB-MDR: foram utilizados três ou quatro drogas de 1ª linha e 2ª linha (todos incluíam ofloxacina).
 - Esquema não MDR: foram três padrões de esquemas possíveis utilizados nessa modalidade de tratamento
 - Esquema I⁽⁸⁴⁾ – planejado para ter duração de seis meses de tratamento, subdividido em duas fases:
 - Fase intensiva: dois meses de R, I, Z;
 - Fase de manutenção: de quatro de R, I.
 - Esquema IR⁽⁸⁴⁾ – planejado para ter duração de seis ou nove meses de tratamento, subdividido em duas fases:
 - Fase intensiva: dois meses de R, I, Z, E;
 - Fase de manutenção: de quatro de R, I, E.
 - Esquema Básico:⁽²¹⁾ planejado para ter a duração de seis meses de tratamento, subdividido em duas fases:
 - Fase intensiva: dois meses de R, I, Z, E;
 - Fase de manutenção: quatro meses de R, I.
 - EIII:⁽⁸⁴⁾ planejado para ter a duração de 12 meses de tratamento, subdividido em duas fases
 - Fase intensiva: três meses de S, E, ETH, Z;
 - Fase de manutenção: nove meses de E, ETH.

4.4.5 Variável dependente (desfecho)

O desfecho foi avaliado em dois momentos:

- Desfecho inicial após o término do primeiro tratamento para TB-MDR, ou seja, até 18 meses após o início do esquema de tratamento para TB-MDR,

como definido pela OMS.⁸⁵ O desfecho inicial tinha quatro possíveis eventos:

- Cura - tratamento concluído após 18 meses, sem evidência de falência (com ou sem três ou mais culturas consecutivas e negativas), tomadas com pelo menos 30 dias de intervalo, após a fase intensiva de 6 meses;
 - Abandono - não comparecimento do paciente à unidade de saúde por mais de 30 dias consecutivos após a data prevista para o seu retorno ou, nos casos em TDO, 30 dias após a data da última tomada das medicações;⁽²¹⁾
 - Óbito - doente que morre por qualquer causa durante o curso do tratamento de tuberculose;
 - Falência – tratamento encerrado devido a:
 - Duas ou mais culturas positivas após o 12º mês de tratamento;⁽²¹⁾
 - Reversão bacteriológica (cultura voltou a ser positiva) na fase de manutenção após ter tido conversão bacteriológica para negativa;^(21, 85)
 - Decisão médica de alterar precocemente o tratamento devido à piora clínica e/ou radiológica.⁽²¹⁾
- Desfecho final – definido pela data do óbito ou data do abandono ou data da última consulta ou por meio de informação em banco de dados TB-WEB fevereiro de 2015, prevalecendo a primeira ocorrência. Também foi classificado em quatro possíveis eventos:
- Cura - tratamento concluído após 18 meses, sem evidência de falência (com ou sem três ou mais culturas consecutivas e negativas), tomadas com pelo menos 30 dias de intervalo, após a fase intensiva de 6 meses;⁽⁸⁵⁾
 - Abandono - não comparecimento do paciente à unidade de saúde por mais de 30 dias consecutivos após a data prevista para o seu retorno ou, nos casos em TDO, 30 dias após a data da última tomada das medicações;⁽²¹⁾

- Óbito - doente que morre por qualquer causa durante o curso do tratamento de tuberculose;
- Falência – tratamento encerrado devido a:
 - Duas ou mais culturas positivas após o 12º mês de tratamento;⁽²¹⁾
 - Reversão bacteriológica (cultura voltou a ser positiva) na fase de manutenção após ter tido conversão bacteriológica para negativa;^(21, 85)
 - Decisão médica de alterar precocemente o tratamento devido à piora clínica e/ou radiológica.⁽²¹⁾

4.5 Procedimentos

4.5.1 Processamento operacional das amostras.

a. Coleta de escarro

O material foi colhido em recipientes (potes) plásticos, com tampa de rosca e identificado com o nome do paciente e o número de registro do laboratório. Os pacientes foram orientados para que a amostra obtida tivesse boa qualidade.

b. Digestão e descontaminação

O método escolhido foi o de PETROFF modificado,⁽⁶⁸⁾ que se baseia na utilização do hidróxido de sódio com o agente fluidificante e descontaminante.

c. Cultura

Após descontaminação e neutralização do escarro 0,5 ml desta suspensão foi semeada no tubo BBL™MGIT™ adicionado de PANTA e OADC e incubados no sistema automatizado BACTEC™MGIT™.

A cada 60 minutos esses tubos foram testados quanto ao consumo de O₂ e densidade óptica. As culturas positivas foram imediatamente assinaladas por uma luz

indicativa localizada na parte frontal do aparelho, seguido por um alarme audível opcional, exibidos no monitor de cristal líquido. O resultado do teste foi registrado e impresso em dias, horas e minutos.

Após a detecção os tubos positivos foram removidos do aparelho para confirmação do resultado através de baciloscopia, como também para isolamento e identificação do organismo.⁽⁸⁶⁾

c.1. Baciloscopia da cultura

Após a detecção, os tubos positivos foram removidos do aparelho para confirmação da presença de bacilo álcool-ácido-resistente através de baciloscopia realizada pelo método de Ziehl-Neelsen (Z-N).⁽⁶⁸⁾

A partir da cultura detectada como positiva no sistema BACTEC™MGIT™, gotas do meio líquido foram colocadas em uma lâmina de microscopia comum, após secagem natural, e posterior fixação em bico de Bunsen. Foi procedida à coloração pelo método de Z-N.

c.2. Identificação de micobactérias

Método fenotípico: a separação das micobactérias não tuberculosas (MNT) dos membros do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB), provenientes de cultura pelo sistema BACTEC™MGIT™ foi realizada, utilizando-se o ácido p-Nitrobenzoico (PNB) adicionado ao meio de cultura na concentração de 500ug/mL, inibe o crescimento das micobactérias do CMTB⁽⁶⁸⁾, bem como pela avaliação da produção de pigmentos, da taxa de crescimento e das características das colônias.

Método molecular: as micobactérias não tuberculose (MNT) foram identificadas utilizando a PRA-hsp65.⁽⁶⁸⁾

Importante enfatizar que neste trabalho foram utilizados apenas testes de sensibilidade fenotípicos. Para drogas de primeira linha foi usado o sistema automatizado, BACTEC™MGIT™ teste de sensibilidade no sistema automatizado BACTEC™MGIT™, SIRE kit (SAT/SIRE), e para fármacos de segunda linha foi utilizada a metodologia de determinação da CMI (concentração inibitória mínima).⁽⁶⁸⁾

c.3. Testes de sensibilidade no sistema automatizado, BACTEC™MGIT™ SIRE kit (SAT/SIRE)

Os TS fenotípicos aos fármacos de primeira linha (Isoniazida, Rifampicina, Etambutol, Estreptomicina) foram realizados no laboratório do Instituto Clemente Ferreira, enquanto que os TS fenotípicos aos fármacos de segunda linha (Amicacina, Ofloxacina ou Levofloxacina, Cicloserina, Clofazimina, Kanamicina, Capreomicina) foram realizados no Instituto Adolfo Lutz.

Foram realizados testes de sensibilidade, utilizando os tubos MGIT com os seguintes antibióticos: estreptomicina, isoniazida, rifampicina e etambutol (SIRE), seguindo a metodologia descrita no manual do usuário.⁽⁶⁸⁾

A estirpe *M. tuberculosis* ATCC 27294 foi empregada como bactéria de referência e apresentou resultado sensível para S, I, R, E e como também crescimento normal no tubo controle (sem utilização de fármacos).

Em todos os testes de sensibilidade foram confeccionadas lâminas e coradas pelo método de Ziehl-Neelsen (Z-N) para confirmação da presença de bacilo álcool-ácido resistente (BAAR).

c.4. Teste de sensibilidade para fármacos de 2º linha

Foi utilizada a metodologia de determinação da CMI (concentração inibitória mínima) dos fármacos de segunda linha utilizados no tratamento dos doentes com TB-MDR.⁶⁸

4.5.2 Testes estatísticos a serem aplicados

Amostra de conveniência.

As variáveis categóricas foram resumidas em frequências absolutas e relativas (porcentagens). As informações referentes às variáveis numéricas foram expressas em médias, desvios-padrão (DP), medianas, intervalo interquartilico. Todas as

variáveis contínuas foram testadas quanto à distribuição, pela relação entre skewness e kurtose com seus respectivos erros padrões, avaliação do histograma e os testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk.

Para análise dos resultados serão utilizados os métodos estatísticos descritos a seguir:

Teste do qui-quadrado de Pearson - utilizado para verificar a relação de dependência entre duas variáveis dicotômicas, levando-se em consideração as restrições de Cochran, aplicou-se o Teste Exato de Fisher. O teste de partição do qui-quadrado foi acrescido quando necessário.

. A comparação entre três ou mais amostras independentes, de distribuição normal, foi avaliada pelo teste ANOVA oneway, com post teste de Bonferroni e, para as de distribuição não paramétrica pelo teste de Kruskal Wallis, com post teste de Mann-Whitney.

Análise univariada foi aplicada para conhecer a associação dos fatores que favoreceram a cura entre as variáveis demográficas, clínicas e radiológicas. As variáveis não hospitalização, tempo tísica-MDR, peso inicial, ausência de comorbidade, radiografia de tórax (lesão parenquimatosa unilateral tendo como ref.: lesão parenquimatosa bilateral e ausência de cavidade tendo como ref.: cavidade bilateral), TB-MDR primária (ref.: TB-MDR adquirida) que apresentaram $p \leq 0,10$ foram selecionadas para testar o modelo de regressão logística múltipla, pelo método "stepwise".

Foi considerado o valor de 5% para rejeição da hipótese de nulidade em todos os testes.

Os dados foram tabulados no programa Microsoft® Excel 2007. O instrumento utilizado para a realização dos cálculos estatísticos foi o programa "Statistical Package for the Social Sciences for Windows" (SPSS) versão 19.0.

5. RESULTADOS

No período de 2006 a 2010, no Instituto Clemente Ferreira, foram isoladas por meio de teste de sensibilidade fenotípico 531 amostras de escarro com presença de bacilos resistentes à rifampicina e isoniazida, provenientes de 190 doentes. Importante relatar que nesse universo foram identificados 13 doentes e suas 39 amostras de escarro com micobactérias não tuberculosas, portanto não incluídos

Foram excluídos nove doentes (12 amostras) por transferência de unidade de saúde, nove doentes (25 amostras) por uso prévio de droga injetável de segunda linha, e 16 doentes (34 amostras) por TS fenotípico com padrão TB pré-XDR e XDR. Portanto foram elegíveis para o estudo 156 doentes e 460 amostras. (Figura 6) e (Anexo 2).

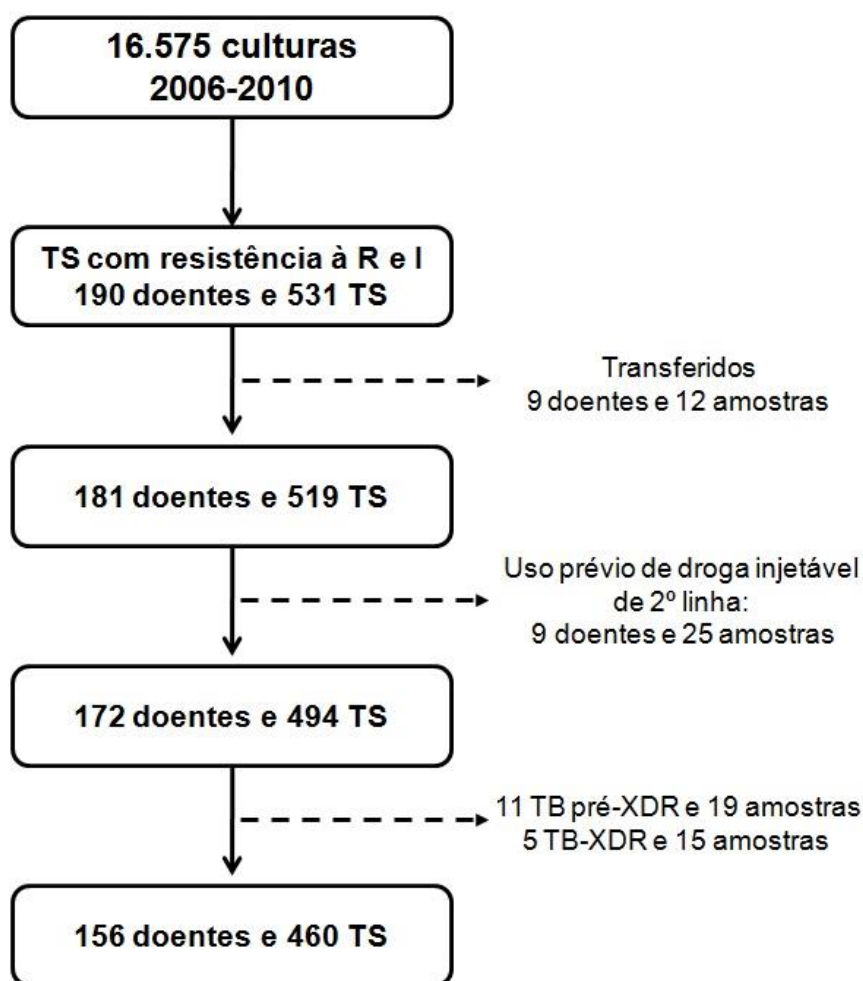


Figura 6 - Fluxograma da amostra de estudo, TB-MDR. TS - teste de sensibilidade; R -rifampicina; I - isoniazida; TB-MDR – tuberculose multidrogarresistente; TB pre-XDR – tuberculose pré-extensivamente drogarresistente; TB-XDR – tuberculose extensivamente drogarresistente.

5.1 Descritiva Geral

Nessa coorte composta por doentes portadores de TB-MDR a média de idade foi de 39,5 anos ($DP \pm 12,5$), a maioria de sexo masculino (60%), e peso médio basal de 57,2 kg ($DP \pm 11,8$). Além disso, vale a pena ressaltar que apenas dois doentes (1%) eram profissionais de saúde. O primeiro diagnóstico de tuberculose foi relatado com média de idade de 35,8 anos ($DP \pm 13,2$). 72% dos doentes procederam da região metropolitana da cidade onde foi realizado o estudo (São Paulo) e apenas 3% da amostra eram estrangeiros. A hospitalização por tuberculose foi relatada em 1/3 dos doentes. Apenas 11 doentes (7%) foram privados de liberdade em algum momento de sua doença e seis doentes (4%) estavam em situação de rua. (Tabela 1)

Na tabela 1 também foi apresentado a mediana do número de tratamentos prévios com drogas de primeira linha, o tempo mediano de evolução do primeiro episódio de tuberculose até comprovadamente apresentar TB-MDR, o tempo para negatificação da cultura de escarro nos doentes que obtiveram cura e o tempo mediano de acompanhamento desta coorte.

Dos 85 doentes que evoluíram com cura após o primeiro tratamento, 89,4% da amostra teve conversão da cultura entre o primeiro e o sexto mês de tratamento, 2,4% após o sexto mês e não foi obtido informações de conversão de cultura em 8,2% dos casos, mas estes últimos foram considerados como cura visto que terminaram o tratamento no tempo regulamentar com boa evolução clínica e radiológica.

A maioria dos doentes (72%) negou contato prévio com doente portador de tuberculose. Por outro lado, 19 doentes (12%) relataram contato com doente portador de tuberculose droga sensível, enquanto 25 doentes (16%) referiram contato com portador de TB-MDR.

Em 144 doentes foi possível classificar a resistência bacilar, onde 58% foi considerado como portador de resistência adquirida e 42% foram classificados como resistência primária. (Tabela 1)

Tabela 1 - Características demográficas dos 156 doentes portadores de TB-MDR incluídos no estudo

Variável	
Idade (anos) média $\pm$ DP	39,5 $\pm$ 12,5
Idade de início da tísica (anos) média $\pm$ DP	35,8 $\pm$ 13,2
Masculino n (%)	94 (60)
Peso (kg)	57,2 $\pm$ 11,8
Procedência n (%)	
Região Metropolitana de São Paulo	112 (72)
Outros municípios do Estado de São Paulo	44 (28)
Hospitalização n (%)	50 (32)
Privado de liberdade n (%)	11 (7)
Em situação de rua n (%)	6 (4)
T. tísica - TBMDR (anos) Md [IQR]	1,0 [0,5 – 2,5]
Tratamentos prévios	
Número de tratamentos Md [IQR]	2,0 [1 – 3]
Tempo para negativação (meses) Md [IQR]	1 [1 - 2]
Conversão da cultura	
Até 6 meses de tratamento	76 (89,4)
> 6 meses de tratamento	2 (2,4)
Sem informações	7 (8,2)
T. de acompanhamento (meses) Md [IQR]	34,7 [18,9 – 61,0]
Número de renotificações	0 [0 – 1]
Contato com TB n (%)	
Sem contato	112 (72)
Contato TB droga sensível	19 (12)
Contato com TBMDR	25 (16)
Resistência n (%)	
Adquirida	84 (58)
Primária	60 (42)

DP - desvio padrão; n - número; Md - mediana; IQR - intervalo interquartilico; T, - tempo; tto - tratamento; TB - tuberculose

Em relação aos sintomas presentes no grupo de doentes estudados houve predomínio de tosse e expectoração, 95% e 93%, respectivamente, e hemoptise ocorreu em apenas 21%.

A maioria dos doentes (66%) não apresentou perda de peso.

Quanto a comorbidade associada mais frequente, *Diabetes mellitus* foi observada em 13%, hepatite em 5% e a co-infecção TB-HIV em 7%, embora o teste para diagnóstico de HIV não tenha sido realizado em 22 doentes (14%). (Tabela 2)

Tabela 2 - Sintomas, sinais clínicos e comorbidades dos doentes portadores de TB-MDR incluídos no estudo

Variável	n (%)
Presença de sintomas n (%)	
Tosse	142 (95)
Expectoração	139 (93)
Febre	51 (34)
Hemoptise	31 (21)
Perda de peso n (%)	
Sem perda	97 (66)
Até 5 kg	42 (29)
Mais de 5 kg	7 (5)
Comorbidades n (%)	57 (37)
<i>Diabetes mellitus</i>	20 (13)
Hepatite	7 (5)
HIV	10 (7)

n - número; TB-MDR - tuberculose multidrogarresistente

Características radiológicas foram avaliadas por meio de radiografia de tórax. Nesse item é importante enfatizar que a maior frequência foi da presença de lesão parenquimatosa bilateral (78% dos casos incluídos), enquanto que a ausência de cavidade ocorreu em apenas 12% dos doentes. (Tabela 3)

Tabela 3 - Características radiológicas dos doentes portadores de TB-MDR incluídos no estudo (n=153)

Radiograma de tórax	n (%)
Lesão parenquimatosa unilateral	34 (22)
Lesão parenquimatosa bilateral	119 (78)
Cavitação	
Ausência	19 (12)
Unilateral	75 (49)
Bilateral	59 (39)

n – número

Nesta coorte foi também avaliado o número de tratamentos prévios, onde 69% foram tratados com dois ou mais esquemas enquanto apenas oito doentes, que representou 5% da amostra, eram virgens de tratamento.

Quanto ao esquema de tratamento administrado, 72% dos doentes que receberam esquema para TB-MDR clássico ou padrão e apenas 21% dos doentes foram tratados com esquema não MDR. (Tabela 4)

Tabela 4 - Doentes estratificados de acordo com o número de esquemas de tratamentos prévios e esquemas de tratamento para TB-MDR

Variáveis	n (%)
n de esquema prévio com drogas de 1º linha	
Virgem de tratamento	08 (05)
01	40 (26)
02	62 (40)
03 ou mais	46 (29)
Esquema de tratamento para TB-MDR	
MDR	
Clássico	112 (72)
Alternativo	11 (07)
Não MDR	33 (21)
EI, EIR ou Básico	08 (05)
III	25 (16)

MDR – multidrogarresistente; n - número; Esquema MDR clássico – amicacina, ofloxacina ou levofloxacina, etambutol, terizidona, metronidazol ou pirazinamida; Esquema MDR alternativo - esquema com 3 ou 4 drogas do grupo de 1º e 2º linha; EI – rifampicina, isoniazida, pirazinamida; EIR - rifampicina, isoniazida, etambutolepirazinamida; EIII – estreptomicina, pirazinamida, etambutol e etionamida

5.2 Avaliação de acordo com os eventos do desfecho inicial

Nesse momento os pacientes foram avaliados em relação ao desfecho inicial, o qual foi categorizado em abandono, falência, cura e óbito.

Ter sido privado de liberdade foi associada a menor proporção de cura e esta diferença foi significativa ($p < 0,001$). O tempo de tísica-MDR foi menor nos doentes que evoluíram para cura ($p < 0,001$). Como era esperado, o tempo de acompanhamento da doença foi menor nos doentes que evoluíram para óbito e maior nos casos de falência. ($p < 0,001$) (Tabela 5)

A idade, sexo, procedência, relato de tratamento prévio, contato com TB ou ter estado em situação de rua foram similares entre os eventos.

Trinta e três doentes foram tratados com esquemas não MDR. Esquemas EI ou EIR ou EB foi usado em oito doentes, com cura em cinco, abandono em dois e um caso de falência. Vinte e cinco doentes foram tratados com EIII, com 16 curas, 4 abandonos e um óbito. Estes 21 doentes que alcançaram a cura sem o uso de esquema para TB-MDR serão analisados adiante.

Tabela 5 - Características demográficas dos doentes em relação aos eventos no desfecho inicial

Variáveis n = 156	Desfecho inicial				p
	A (23)	F (37)	C (85)	O (11)	
Idade (anos) $\bar{x} \pm DP$	37,4 $\pm$ 11,7	39,9 $\pm$ 12,6	38,7 $\pm$ 12,5	47,8 $\pm$ 11,6	0,12 #
Masculino n (%)	13 (56)	18 (49)	54 (64)	09 (82)	0,19§
Procedência n (%)					0,26§
São Paulo	12(52)	23 (62)	50 (59)	05 (50)	
Outra localidade	09 (39)	12 (32)	35 (41)	04 (40)	
Estrangeiro	02 (8)	02 (5)	00 (00)	01 (10)	
Privado de liberdade n (%)	06 (27)	03 (8)	01 (1)	01 (10)	<0,001§
Em situação de rua n (%)	02 (10)	00 (0)	04 (5)	00 (0)	0,24§
T tísica-MDR (anos) Md [IQR]	2 [0,8-4]	2 [1-5]	1[0,4-1,5]	0,5[0,2-2,5]	<0,001¥
Tratamentos prévios n (%)	22 (96)	37 (100)	79 (93)	09 (90)	0,37§
N de tratamentos Md [IQR]	3[2-3]	3[2-3]	2[1-2]	2[1-3]	<0,001¥
T acompanhamento (m) Md [IQR]	32 [10-55]	67[44-103]	32[19-47]	7 [4-12]	<0,001¥
Contato TB n (%)					0,64§
Sem contato	18 (78)	29 (78)	56 (66)	9 (82)	
TB droga sensível	1 (4)	4 (11)	13 (15)	1 (9)	
TBMDR	4 (18)	4 (11)	16 (19)	1 (9)	

X - média; n - número de doentes; Md – mediana; A - abandono; F – falência; C - cura; O- óbito
 # - ANOVA one-way (complementada com teste de Bonferroni); § - Teste do qui-quadrado (complementado pela partição do teste); ¥ - teste de Kruskal-Wallis

O valor médio do peso inicial foi diferente entre os grupos estudados ($p=0,028$); na complementação pelo teste de Bonferroni, observou-se que a média do peso inicial foi maior para os doentes do grupo cura ($59,8 \pm 12,8\text{kg}$) que no do grupo falência ($53,4 \pm 9,5 \text{ kg}$). ($p < 0,046$) (Figura 7)

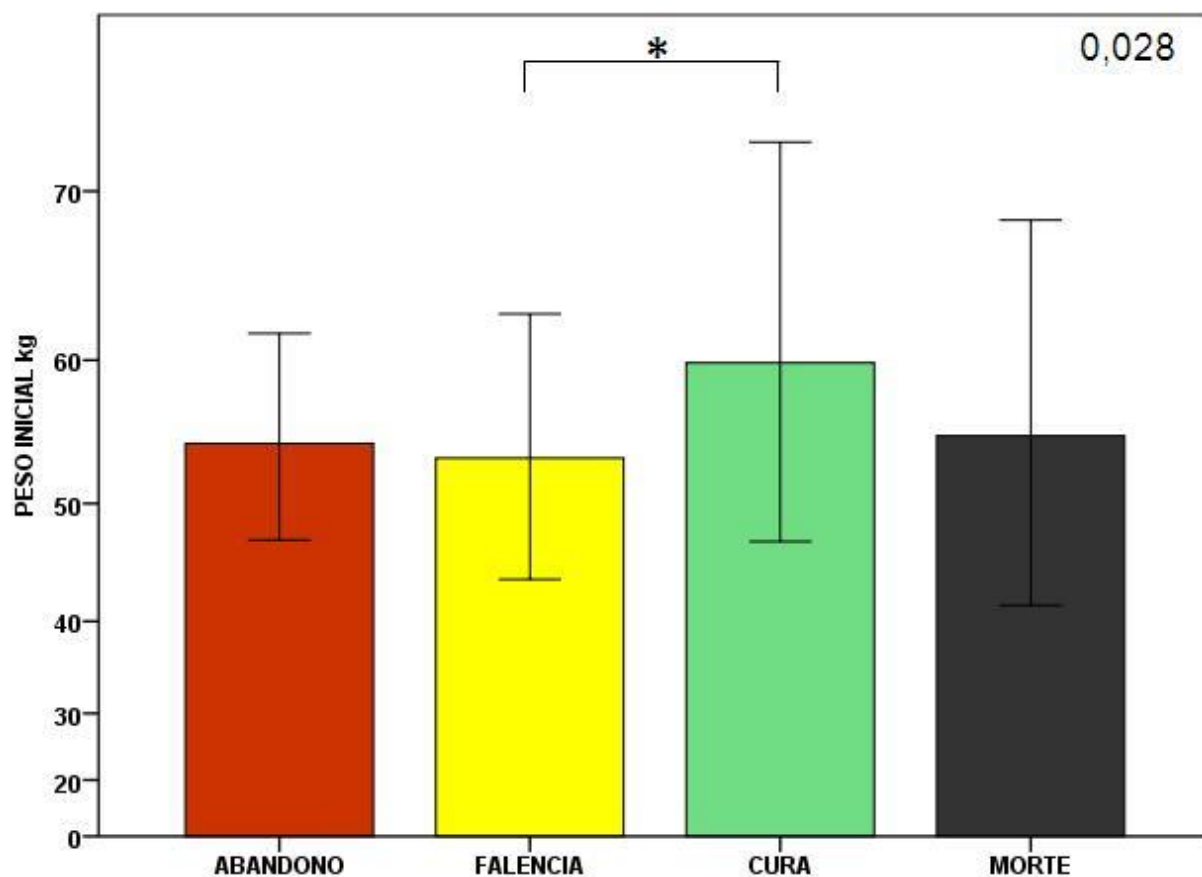


Figura 7 - Associação do peso inicial dos doentes com TB-MDR em relação aos eventos do desfecho inicial. ANOVA complementada pelo teste de Bonferroni; * - significância.

A hospitalização ocorreu em 1/3 dos doentes. A não hospitalização foi associada ao desfecho cura, onde 83% dos doentes que curaram após 18 meses de tratamento, não estiveram hospitalizados. ($p < 0,001$) (Figura 8)

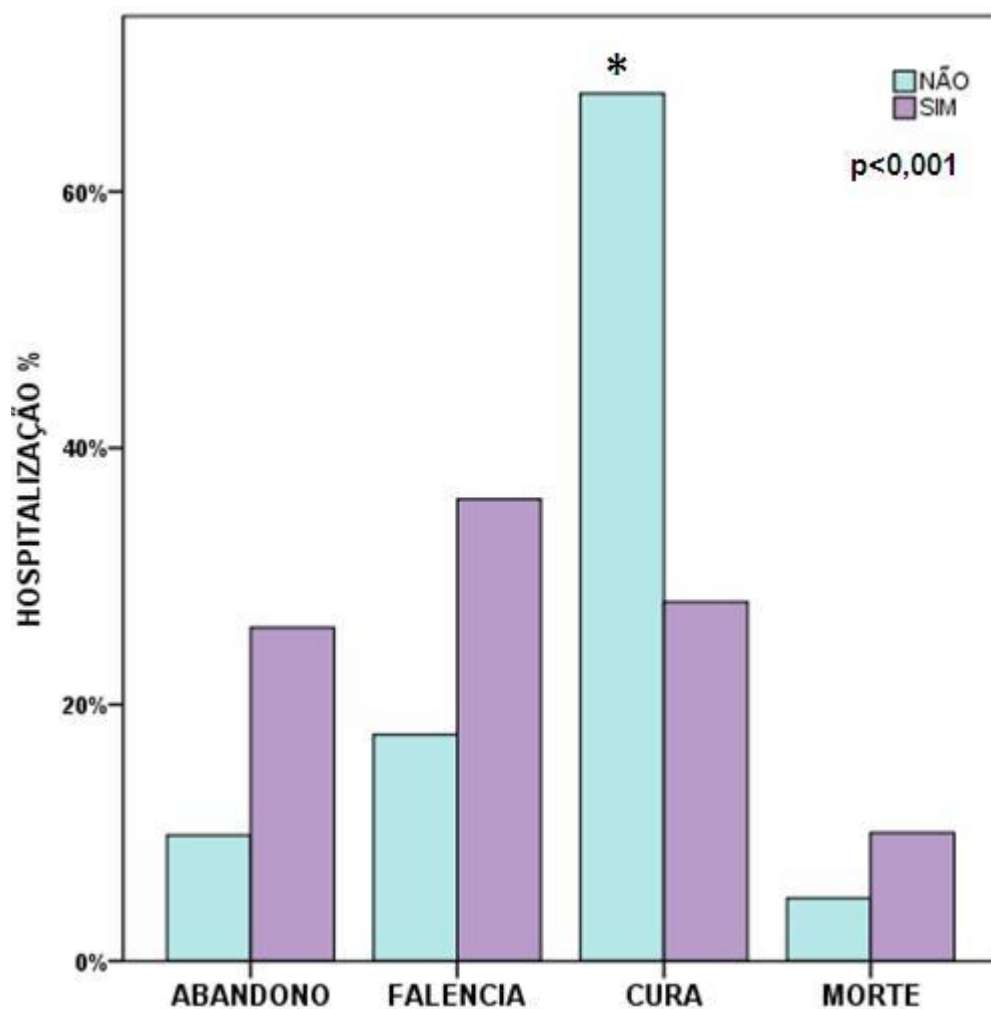


Figura 8 – Associação da hospitalização dos doentes com TB-MDR em relação aos eventos do desfecho inicial.

Teste do qui-quadrado, acrescido do teste de partição do qui-quadrado; *- significância.

A proporção de doentes que eram virgens de tratamento (sem esquema prévio de tratamento) foi maior no grupo de evento cura após 18 meses de tratamento para TB-MDR. ($p < 0,001$) (Figura 9)

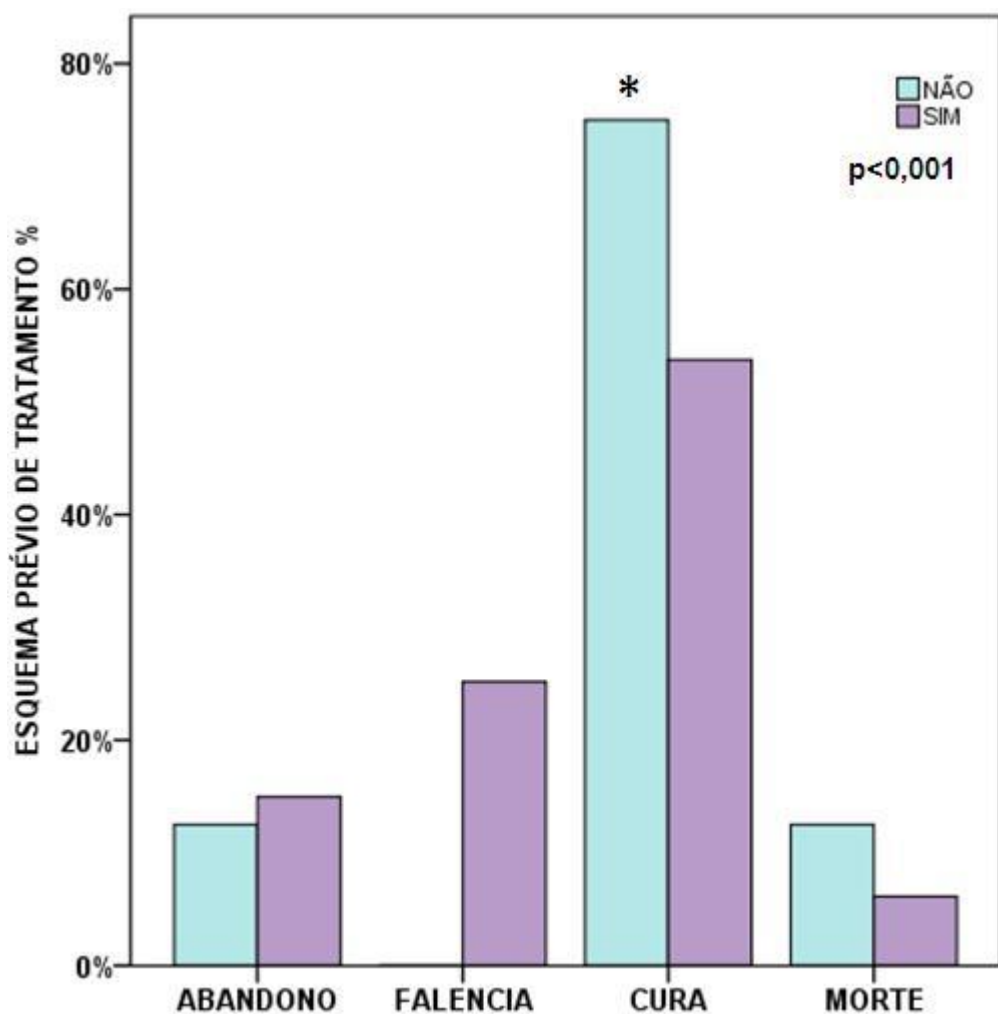


Figura 9 – Associação do número de tratamentos prévios dos doentes com TB-MDR com drogas de 1ª linha em relação aos eventos do desfecho inicial.

Teste do qui-quadrado acrescido do teste de partição do qui-quadrado; * - significância.

Entre os indivíduos que curaram, 56% eram portadores de resistência primária, enquanto 79% dos indivíduos do grupo falência e 86% do grupo abandono eram portadores de resistência adquirida. ($p < 0,001$) (Figura 10)

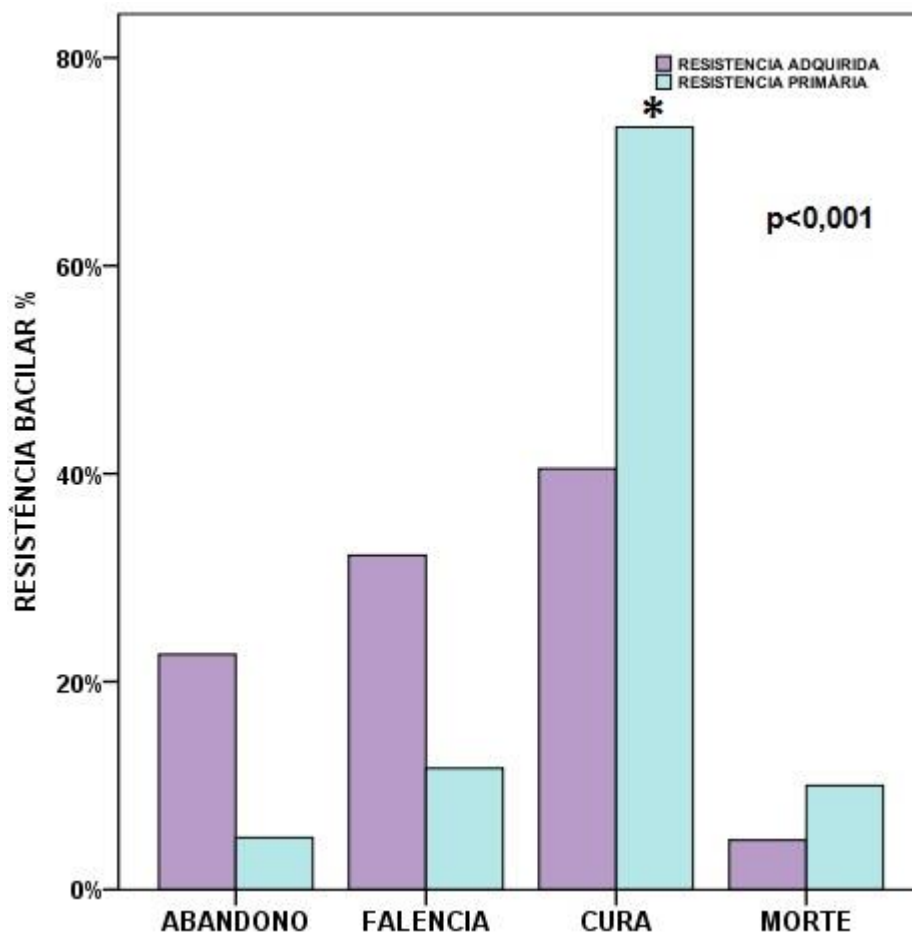


Figura 10 – Associação da resistência adquirida e resistência primária dos doentes com TB-MDR em relação aos eventos do desfecho inicial.

TBMDR – tuberculose multidrogarresistente; Teste do qui-quadrado acrescido do teste de partição do qui-quadrado; * - significância.

Não houve diferença significativa entre os diferentes grupos de eventos em relação à presença de perda de peso inicial e sintomas. (Tabela 6)

Tabela 6 - Sintomas, sinais clínicos e comorbidades dos doentes portadores de TB-MDR em relação aos eventos no desfecho inicial

Variável	Desfecho inicial				p
	A	F	C	O	
Presença de sintomas n (%)					
Tosse	20 (95)	37 (100)	74 (93)	11 (100)	0,29
Expectoração	19 (91)	37 (100)	74 (92)	09 (82)	0,15
Febre	06(29)	15(41)	27(33)	03 (27)	0,75
Hemoptise	06 (29)	07(19)	14 (17)	04 (36)	0,38
Perda de peso n (%)					0,27
Sem perda	12 (57)	21 (62)	57 (71)	07 (64)	
Até 5 kg	08 (38)	13 (38)	19 (24)	02 (18)	
Mais de 5 kg	01 (5)	0 (0)	04 (5)	02 (18)	
Comorbidades	11 (50)	13 (35)	23 (28)	10 (91)	<0,001
<i>Diabetes mellitus</i>	02 (9)	04 (11)	13 (16)	01 (9)	0,77
Hepatite	02 (9)	01 (3)	03 (4)	01 (9)	0,59
HIV	04 (19)	03 (9)	00 (0)	03 (37)	<0,001

HIV - vírus de imunodeficiência humana; A - abandono; F – falência; C - cura; O - óbito
 Teste do qui-quadrado acrescido do teste de partição do qui quadrado; * - significância

O grupo de doentes sem comorbidade foi associado ao evento cura ($p<0,001$) enquanto o grupo de doentes que evoluiu para óbito, 90% deles apresentaram pelo menos uma comorbidade. (Tabela 6 e Figura 11)

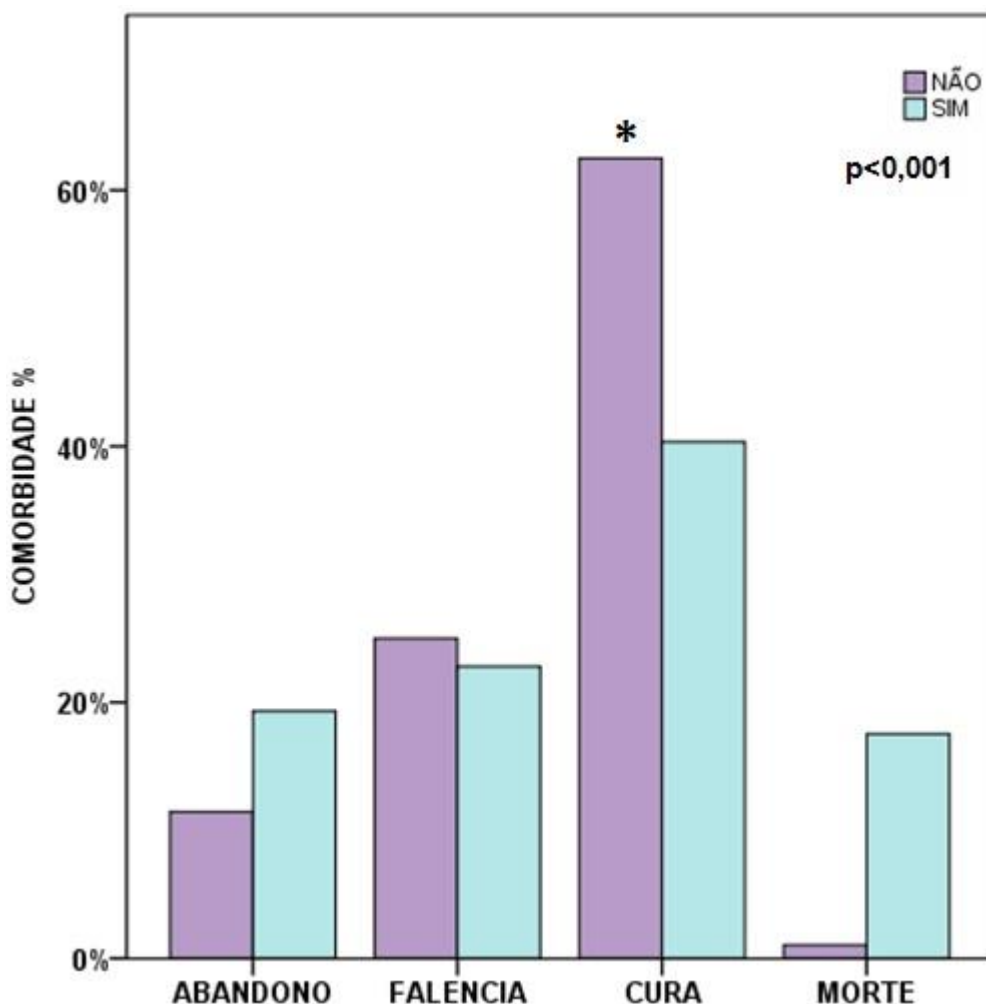


Figura 11 – Associação da presença de comorbidade em doentes com TB-MDR em relação aos eventos do desfecho inicial.

Teste do qui-quadrado acrescido do teste de partição do qui-quadrado; * - significância.

Uma proporção maior de doentes sem cavidade pulmonar foi associada ao evento cura enquanto que nos eventos abandono e falência houve maior associação com a presença de cavidade pulmonar (uni ou bilateral). ($p=0,008$) (Tabela 7 e Figura 12)

A presença de lesão parenquimatosa unilateral foi associada ao evento cura. ($p=0,040$) (Tabela 7)

Tabela 7 - Características radiológicas dos doentes portadores de TB-MDR incluídos no estudo com relação aos eventos no desfecho inicial

Radiografia de tórax n (%)	Desfecho inicial				p
	A	F	C	O	
Lesão parenquimatosa					0,040
Unilateral	02 (9)	04 (11)	25 (30)	03 (30)	
Bilateral	21 (91)	33 (89)	59 (70)	07 (70)	
Cavidade					0,008
Sem	00 (0)	01 (03)	15 (18)	03 (30)	
Unilateral	11 (50)	15 (40)	45 (54)	04 (40)	
Bilateral	11 (50)	21 (57)	24 (28)	03 (30)	

n - número; A - abandono; F - falência; C - cura; O - óbito

Teste do qui-quadrado acrescido do teste de partição do qui-quadrado; * - significância

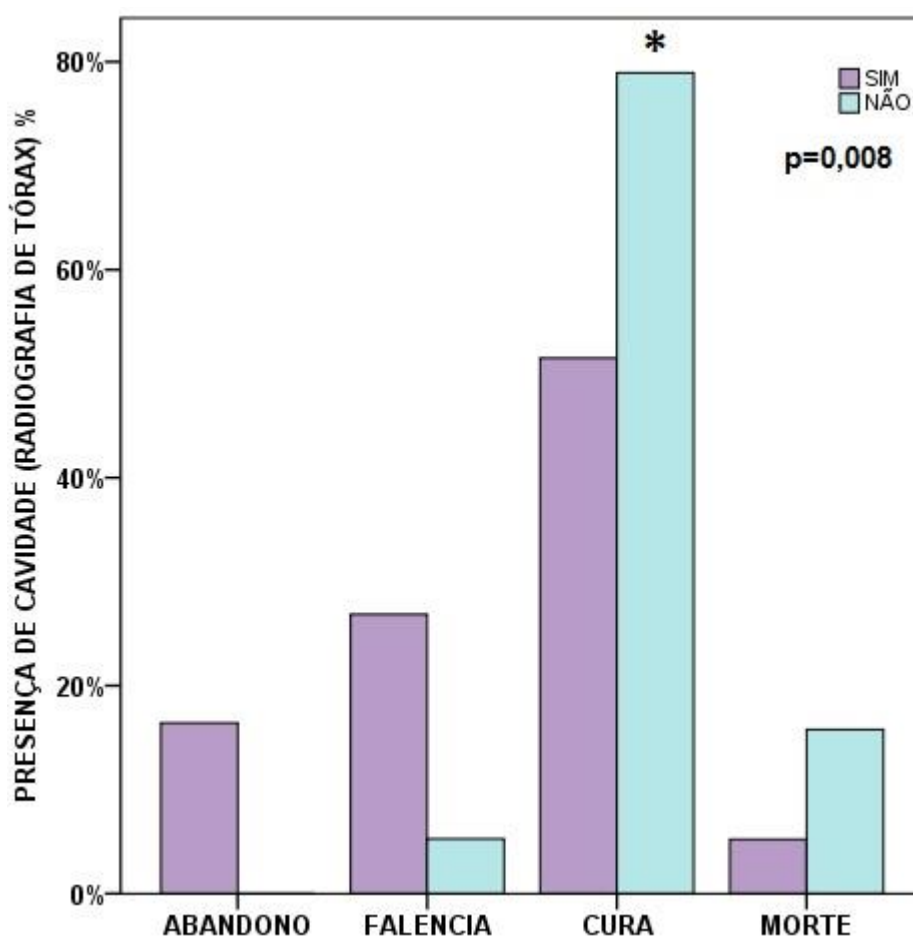


Figura 12 – Associação do descritor “cavidade” em doentes com TB-MDR em relação aos eventos do desfecho inicial.

Teste do qui-quadrado acrescido do teste de partição do qui-quadrado; * - significância.

Análise univariada foi aplicada para conhecer as possíveis associações das variáveis independentes (demográficas, clínicas e radiológicas) com o evento cura no evento inicial. As variáveis: não hospitalização, tempo tísica-MDR, peso inicial, ausência de comorbidade, radiografia de tórax (lesão parenquimatosa unilateral tendo como ref.: lesão parenquimatosa bilateral e ausência de cavidade tendo como ref.: cavidade bilateral), TB-MDR primária (ref.: TB-MDR adquirida) que apresentaram $p \leq 0,10$ foram selecionadas para testar o modelo de regressão logística múltipla, pelo método “stepwise”. (Tabela 8)

Tabela 8 – Análise univariada de fatores demográficos, clínicos e radiológicos associados à cura dos doentes TB-MDR, por regressão logística

Variável	Razão de chance	IC 95%	p
Idade (anos)	0,99	0,97-1,01	0,486
Masculino	1,41	0,73-2,72	0,300
Não-hospitalização	5,08	2,39-10,79	<0,001
T Tísica-MDR (meses)	0,87	0,76-0,98	0,027
Peso (kg)	1,05	1,01-1,08	0,006
Ausência hemoptise	1,69	0,76-3,77	0,195
Ausência comorbidade	2,17	1,09-4,30	0,026
Virgem de tratamento	4,94	0,58-42,06	0,144
T diag-Tto (meses)	0,99	0,99-1,00	0,371
Lesão pulmonar unilateral	3,51	0,41-8,75	0,007
Cavidade pulmonar bilateral (ref)			
Sem cavidade	10,31	2,2-49,4	0,004
Unilateral	2,06	1,02- 4,15	0,043
Contato MDR (ref)			
Sem contato	0,61	0,25-1,49	0,275
Contato sensível	1,22	0,34-4,32	0,759
TB-MDR primária	4,44	2,11-9,34	<0,001

T - tempo; Tto - tratamento; ref – referência; TB-MDR - tuberculose multidroga resistente

Na tabela 9 está detalhadamente demonstrada a construção do modelo de regressão logística, pelo método “stepwise”. Em cada passo, com a adição de variáveis, o -2-Log-Likelihood reduziu enquanto que a percentagem de acerto do modelo aumentou.

Tabela 9 - Construção passo a passo do modelo de regressão logística múltipla, de acordo com -2-log-Likelihood e Coeficiente de explicação

Modelo	-2-Log-likelihood	% explicação	Variáveis
2 variáveis	175.635	63,2	Peso inicial Tempo de tísica-MDR
3 variáveis	165.802	65,9	Peso inicial Tempo de tísica-MDR Sem comorbidade
4 variáveis	157.769	68,4	Peso inicial Tempo de tísica-MDR Sem comorbidade Sem cavidade bilateral
5 variáveis	138.271	67,2	Peso inicial Tempo de tísica-MDR Sem comorbidade Sem cavidade bilateral TB primária

Modelo em step-wise

Análise múltipla foi utilizada para avaliar a associação dos fatores que favoreceram o evento cura ajustadas para prováveis variáveis confundidoras. Assim, após o ajuste do modelo para tempo de tísica-MDR e ausência de cavidade bilateral, os doentes que se apresentaram com maior peso inicial (RC= 1,05), sem comorbidade (RC= 2,47) e com TB-MDR primária (RC=2,67) foram associados com cura ao final do primeiro tratamento para TB-MDR. (Tabela 10)

Tabela 10 - Fatores demográficos, clínicos e radiológicos associados a cura, após 18 meses de tratamento, para os 156 doentes portadores de TB-MDR. (-2-Log-likelihood 138.271)

Variável	Razão de chance (RC)	IC 95%	p
Peso inicial	1,05	1,01-1,09	0,028
Tempo de tísica-MDR	0,93	0,77-1,12	0,442
Sem comorbidade	2,47	1,03-5,91	0,043
Sem cavidade bilateral	2,16	0,93-5,00	0,073
TB-MDR primária	2,67	1,05-6,76	0,039

IC - Intervalo de confiança; MDR - multidrogarresistente; TB-MDR - tuberculose multidrogarresistente

5.3 Avaliação longitudinal: eventos no desfecho inicial em relação aos eventos no desfecho final

Quanto ao evento óbito foram 11 casos (7%) no desfecho inicial e 29 doentes no desfecho final, totalizando 40 óbitos (26%). Entre os 85 doentes (54%) que alcançaram a cura no desfecho inicial, 82 continuaram curados. No desfecho final, foi observado que quatro doentes do grupo de abandono e cinco doentes do grupo de falência no desfecho inicial, evoluíram para cura, totalizando 91 doentes curados (58%).

O abandono se manteve com taxa muito elevada tanto no evento inicial como no final. (Tabela 11)

Tabela 11 - Distribuição dos 156 doentes estudados quanto aos eventos no desfecho inicial em relação aos eventos no desfecho final

Desfecho Final	Desfecho Inicial				Total
	Abandono	Falência	Cura	Óbito	
Abandono	11	01	00	00	12 (8%)
Falência	01	10	02	00	13 (8%)
Cura	04	05	82	00	91 (58%)
Óbito	07	21	01	11	40 (26%)
Total	23 (15%)	37 (24%)	85 (54%)	11(7%)	156 (100%)

Dos 156 doentes classificados inicialmente como TB-MDR, no final do seguimento 125 deles permaneceram TB-MDR, 18 foram definidos como TB pré-XDR e 13 como TB-XDR. (Tabela 12)

A partir desta classificação observamos que os doentes que permaneceram TB-MDR 70% curou e 18% evoluiu para óbito. Os doentes que migraram para TB pré-XDR e TB-XDR, 17% e 8% curaram e 67% e 46% morreram, respectivamente. (Tabela 12)

Tabela 12 - Evolução das classes de multirresistência no acompanhamento evolutivo da coorte (MDR, pré-XDR e XDR) e o evento cura e óbito, no desfecho final

Classe Inicial		Classe Final n (%)			
		MDR	Pré-XDR	XDR	Total
TB-MDR	n (%)	125(80)	18(12)	13(8)	156
	Cura	87(70)	03(17)	01(8)	91
	Óbito	22(18)	12(67)	06(46)	40

TB-MDR – tuberculose multidroga resistente; TB pré-XDR – tuberculose pré extensivamente resistente; TB-XDR – tuberculose extensivamente resistente; TS – teste de sensibilidade

5.4 Avaliação da resistência bacilar às drogas antituberculose por meio da análise das amostras de escarro coletadas.

Foi realizado TS fenotípico em 460 amostras referentes a 156 doentes.

O teste de sensibilidade utilizado aos fármacos de primeira linha foi automatizado, BACTEC™MGIT™ SIRE kit e para os fármacos de segunda linha foi utilizada a metodologia de determinação da CMI (concentração inibitória mínima), como descrito na secção Métodos.

O TS fenotípico para drogas de primeira e segunda linha foi realizado em 99 doentes (64%) enquanto que o TS somente para primeira linha foi realizado em 57 doentes (36%). Estes dados se referem a todas as amostras de cada paciente e não apenas a primeira amostra analisada.

A análise de resistência bacilar às diferentes drogas para tratamento da tuberculose está registrada na tabela 13.

Tabela 13 - Resistência do bacilo aos fármacos nas amostras testadas (460 amostras) para cada droga anti-tuberculose de 1ª e 2ª linha

Drogas (n de amostras testadas)	Amostras resistentes n	%
Rifampicina (442)	405	92
Isoniazida (442)	442	95
Etambutol (434)	179	41
Estreptomicina (432)	191	44
Pirazinamida (214)	119	55
Quinolona (212)	54	26
Amicacina (212)	30	14
Capreomicina (137)	19	14
Kanamicina (136)	30	22
Cicloserina (74)	03	04
Clofazimina (79)	08	10

Finalmente, foi avaliada a resistência bacilar do binômio rifampicina-isoniazida em relação a todas as amostras de cada paciente que possuía duas ou mais amostras. Observou-se que a resistência homogênea à dupla rifampicina-isoniazida se associou ao evento cura do desfecho final enquanto que a resistência heterogênea se associou aos eventos negativos (falência e óbito). ($p=0,037$) Importante ressaltar que o evento abandono não foi considerado nessa análise. (Tabela 14)

Tabela 14 - Desfecho final em relação à variabilidade da resistência ao binômio isoniazida e rifampicina das amostras nos 144 pacientes estudados

Desfecho final	Resistência RI n (%)		p
	Homogênea	Heterogênea	
Favorável			0,037
Cura	84 (62)	07 (33)	
Desfavorável			
Óbito	30 (22)	10 (48)	
Falência	10 (07)	03 (14)	

n - número; RI - rifampicina e Isoniazida. Teste de qui-quadrado

5.5. Recidiva

Finalmente foram avaliadas as recidivas. Houve seis casos (7%) de recidiva entre os 85 casos curados no desfecho inicial. Todos as recidivas aconteceram de dois a seis anos após cura. (Tabela 15)

As recidivas aconteceram em dois doentes tratados com esquema clássico de TB-MDR e quatro doentes tratados com EIII e na recidiva apenas três doentes tiveram suas amostras submetidas ao TS fenotípico. Importante ressaltar que não houve recidiva em doentes tratados com EI ou EB.

Tabela 15 - Recidiva dos casos de TB-MDR entre os 85 casos com desfecho cura no evento inicial

Paciente	Ano	TS - r	Esq.tto inicial	Ano de recidiva	TS - r	Esq. retratamento	Desfecho
1	2006	RI (1 ^a -2 ^a)	Clássico	2012	-	EB	Cura
2	2009	RI (1 ^a -2 ^a)	Clássico	2014	-	Sem	Abandono
3	2008	RI (1 ^a)	EIII	2013	RIZ	Clássico com SM	Cura
4	2007	RI (1 ^a)	EIII	2009	-	Clássico com SM	Cura
5	2008	RI (1 ^a)	EIII	2011	-	EB	Cura
6	2007	RI (1 ^a)	EIII	2009	RIZAK	-	Óbito

TS - teste de sensibilidade; r – resistente; Esq – esquema; R - rifampicina; I - isoniazida; 1^o e 2^o I – TS para fármacos de primeira e segunda linha; Clássico - amicacina, quinolona, etambutol, terizidona, pirazinamida; EIII - estreptomicina, etambutol, etionamida, pirazinamida; Z - pirazinamida; A - amicacina; K - kanamicina; EB - esquema básico; SM - estreptomicina

6. DISCUSSÃO

Em quatro anos de estudo no Instituto Clemente Ferreira, foram realizadas 16.575 culturas de escarro para *Mycobacterium tuberculosis*, e dessas apenas 3,2% demonstraram resistência ao binômio rifampicina-isoniazida, valor relativamente baixo em relação a determinadas regiões do mundo.^(16, 17)

A amostra de 156 doentes portadores de TB-MDR foi composta principalmente por pacientes do sexo masculino, com idade média em torno de 39 anos, portanto em período laboral de vida. Esse contexto socio-econômico provoca sérios problemas, com sofrimento para o próprio doente bem como para toda família e outros comunicantes.^(32, 87-89)

A maioria dos doentes procedeu da região metropolitana de São Paulo, menos de 1/3 eram moradores de outros municípios do estado e apenas três doentes estrangeiros, sem qualquer informação sobre o momento migratório.

Grupo de doentes em situação especial como os que necessitaram hospitalização, quer seja pela gravidade da doença ou por sua condição social, os que foram privados de liberdade⁽⁸⁹⁻⁹¹⁾ em algum período da doença e os que viviam em situação de rua foram a minoria, porém essas minorias elevam a complexidade da conduta tanto do ponto de vista clínico como social. São grupos que requerem atenção especial, pois estão expostos à localidade de alta incidência de tuberculose, com maior chance de reinfecção exógena o que pode exigir medidas estratégicas específicas.^(56, 92)

O tempo, em mediana, entre o primeiro diagnóstico de tuberculose e a confirmação de resistência compatível com a definição de TB-MDR foi de um ano. Apenas 5% da amostra negou a realização de qualquer modalidade de tratamento prévio para tuberculose.

Neste período de tempo da evolução até ser diagnosticada a TB-MDR, gerou a possibilidade de utilizar inúmeros tratamentos com drogas de primeira linha,⁽⁹³⁾ o que pode induzir ao aumento de risco de ampliação de resistência bacilar, da transmissão de bacilo droga sensível e/ou droga resistente. Esse cenário corrobora para identificar

as fragilidades do programa de controle da tuberculose e do manejo de eventos desfavoráveis pós tratamento.⁽⁹⁴⁾

A maioria dos doentes, nessa amostra, negou contato anterior com tuberculose, apenas 1/3 relatou esse contato e não foi obrigatoriamente com doentes portadores de TB-MDR. Esses achados se mantêm semelhantes ao longo do tempo na instituição onde estudo prévio foi executado por Fernando Augusto Fiuza de Melo e cols.⁽⁸⁷⁾

Conversão bacteriológica nos doentes que curaram ocorreu mais frequentemente no primeiro e segundo mês de tratamento (IQR 1-2) e em 89% dos doentes desse estudo a negatificação ocorreu em até seis meses. A conversão após o sétimo mês só foi observada em dois doentes. Este resultado sugere o benefício de criar critério para diagnóstico precoce da falência de tratamento, evitando assim a manutenção de um esquema inadequado por tempo prolongado e consequente ampliação da resistência bacilar e fortalecendo a indicação de monitoramento periódico da cultura de escarro durante o tratamento.^(77, 89, 92, 95-98)

Em 144 doentes foi possível estabelecer o tipo de resistência, ou seja, se a resistência era primária ou adquirida. Houve discreto predomínio da última. Foi surpreendente encontrarmos a proporção de 42% de TB-MDR primária nessa amostra, uma vez que, no Brasil, a taxa desse descritor é muito baixa, com valores em torno de 4%,^(5, 21, 87, 99-101) porém no estado de Minas Gerais, Dantas e cols relataram possíveis casos de TB-MDR por transmissão primária em 20 a 30% dos doentes.⁽⁶²⁾ Essa discrepância deve-se, provavelmente, ao fato de diferentes ferramentas para definir o mesmo parâmetro. A taxa de resistência primária de 4% foi fundamentada na definição clássica, onde seriam inclusos os casos resistentes, porém nunca tratados para TB ou tratados por menos de 30 dias, ou ainda, inicialmente contaminados por bacilos previamente resistentes também chamada de resistência transmitida.^(3, 21) Essa definição é a mais aplicada, portanto é possível que as taxas de TB-MDR primária ou transmitida estejam subestimadas.^(3, 27, 80) Outra possibilidade para essa taxa estar subestimada é o fato dos TS fenotípicos para drogas de primeira linha e, especialmente de segunda linha, não serem universalmente oferecidos antes do início do planejamento do esquema terapêutico a ser instituído.^(100, 102)

Assim, a definição aplicada nesse estudo foi a de resistência primária estendida, onde se acrescentou ao grupo da definição clássica os casos de doentes nunca tratados para TB, mas que iniciaram tratamento com esquema básico supondo-se portadores de TB por bacilos sensíveis às drogas de primeira linha, porém que não curaram, apesar de boa adesão, e com posterior confirmação da resistência bacilar compatível com padrão TB-MDR, por meio de TS fenotípico, em amostra colhida antes de iniciar o tratamento.^(3, 80, 103-105) Isso só foi possível porque antes de iniciar qualquer modalidade de tratamento nesse estudo, a cultura para *Mycobacterium tuberculosis* em escarro e TS fenotípico⁽¹⁰⁶⁾ para fármacos de primeira linha foram realizados de rotina para todos os doentes matriculados e, caso se confirmasse a presença de TB-MDR, era realizado o TS para fármacos de segunda linha. Nesse mesmo sentido, Gunther e cols, em estudo realizado em 16 países europeus, também relataram taxa elevada de TB-MDR provavelmente por transmissão de bacilo multidrogarresistente pois 52,4% dos doentes não haviam realizado tratamento prévio.⁽¹⁰⁶⁾

No Brasil, em um estudo realizado no estado do Espírito Santo, com recurso de método molecular, a taxa de resistência primária variou de 0,3% a 30% podendo ser maior em doentes portadores de HIV.⁽¹⁰⁷⁾ Semelhante situação ocorreu em um estudo realizado em São Paulo.⁽¹⁰⁸⁾

É de suma importância a diferenciação entre resistência primária e adquirida pois pode haver implicações na estratégia programática no controle da transmissão do bacilo multidrogarresistente. Esta caracterização pode servir de indicador de eficiência do programa de controle da tuberculose auxiliando nos ajustes e no desenvolvimento de ferramentas para controle da TB-MDR.^(106, 109)

Além disso, apenas oito doentes (5%) negaram uso de tratamento prévio com fármacos antituberculose e pelas normas vigentes do PNCT/MS na situação de não existência de fator de risco para TB droga resistente, o esquema empírico indicado para iniciar o primeiro tratamento da tuberculose era o EI (RIZ) ou EIR (RIZE), pois deveriam ser conduzidos como caso de TB droga sensível. Apenas após má evolução clínica, radiológica ou microbiológica, a norma recomendada era solicitar cultura de escarro para micobactéria e TS fenotípico. Neste cenário, possivelmente, existirão doentes que poderiam ser casos de TB-MDR primária, justificado pelo fato do primeiro tratamento de tuberculose, embora sem qualquer irregularidade, o doente apresentou na sua evolução, uma resposta ao tratamento empírico não satisfatório. Infelizmente,

a manutenção desta recomendação, a nosso ver, leva ao atraso do diagnóstico da resistência bacilar, a utilização de esquema de tratamento inadequado, o que pode facilitar a ampliação da resistência e consequentemente agravamento das condições clínicas e pior, a manutenção da transmissão de bacilos multidrogarresistentes.^(100, 103, 109)

Se não for oferecido TS fenotípico para todos os casos de tuberculose previamente ao tratamento, torna-se impossível uma avaliação precisa e medidas adequadas para controle de transmissão.

Por meio de métodos de genotipagem do *M. tuberculosis*, como sequenciamento genômico, RFLP, Spoligotyping ou MIRU-VNRT-mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat é possível explorar melhor a transmissão dinâmica do bacilo, a filogenética com seus efeitos das linhagens e transmissão de bacilo droga resistente além da diferenciação de reinfecção exógena e recidiva.^(106-108, 110, 111)

Quanto às características clínicas, como era esperado, os sintomas predominantes não diferiram dos sintomas da tuberculose droga sensível. A presença de tosse e expectoração presentes na expressiva maioria dos casos, e associadas às alterações radiológicas como cavidade e lesão parenquimatosa sugerem a possibilidade de eliminação de grande carga bacilar, com relevância na transmissão da doença.

Felizmente, apenas 20% da amostra apresentou hemoptise, muito embora na radiografia de tórax apresentassem lesões extensas.

Em relação ao peso, a maioria dos doentes (65%) não referia perda, e a possível justificativa para esse achado é que eram indivíduos cronicamente emagrecidos pela própria doença tuberculosa, independentemente de ser droga sensível ou droga resistente.

Comorbidades estiveram presentes em 1/3 dos doentes. A mais frequente foi a *Diabetes mellitus* e sabe-se que essa associação pode ser elevada.^(112, 113) A co-infecção TB-HIV esteve presente em apenas 7% dos doentes, diferente de estudos com elevada taxa de associação.^(14, 32) Importante ressaltar dois aspectos que poderiam justificar a baixa associação da co-infecção TB-HIV, neste estudo. Primeiro que 22 doentes (14%) não realizaram o teste sorológico para HIV⁽¹¹⁴⁾ e segundo, na cidade de São Paulo, os doentes portadores da co-infecção TB-HIV são

rotineiramente encaminhados e tratados no Centro de Referência e Treinamento DST/AIDS-SP, o que pode ter gerado viés de inclusão.

Em relação ao esquema de tratamento de TB-MDR, como esperado, a maioria foi tratada com o esquema padronizado pelo PNCT-MS. Inúmeros estudos demonstraram que a utilização de esquemas de tratamento padronizados leva ao menor risco de progressão da resistência bacilar^(115, 116) principalmente se houver oferta ampla de TS fenotípico, para fármacos de primeira e segunda linha, o que implicará em diagnóstico preciso e tratamento personalizado, se necessário.⁽¹¹⁷⁾

Dos 156 doentes apenas 33 doentes foram tratados com esquemas não MDR, ou seja, EI, EIR, EB ou EIII, e desses, 21 casos curaram. Como foi relatado anteriormente, é recomendado o uso de esquema de tratamento empírico para aqueles doentes sem fator de risco para TB-MDR, portanto, foi iniciado o EI ou EB, seguindo as normas do programa. Como o TS fenotípico era realizado de rotina no Instituto Clemente Ferreira, verificou-se posteriormente a presença de resistência bacilar às drogas antituberculosas, mas como a evolução clínica, radiológica e microbiológica foi satisfatória, o tratamento foi mantido. Demonstrou-se assim que houve discrepância clínica em relação ao TS fenotípico *in vitro*. O uso do EIII já implicava no insucesso prévio do EI, EIR ou EB, o que poderia, antecipadamente, sugerir a presença de resistência bacilar. Vários trabalhos evidenciam que esta conduta não deve ser usada na prática clínica de forma corrente mas pode ocorrer em situações especiais que a justificam. A boa evolução destes casos pode ser explicada pela capacidade do sistema imune do doente, resistência parcial aos fármacos do esquema utilizado e inclusive por cultura contaminada.^(118, 119)

Os doentes foram observados quanto aos eventos no desfecho inicial, ou seja, situação do doente após o término do primeiro tratamento para TB-MDR. O evento abandono foi associado ao fato do doente ter sido privado de liberdade, ter maior mediana de tratamentos prévios, maior tempo entre o primeiro diagnóstico de tuberculose e a confirmação da TB-MDR, bem como menor proporção de doença unilateral pela radiografia de tórax, ou seja, são situações de menor adesão ao tratamento que possivelmente possibilitaram ampliação da resistência bacilar, levando a menor taxa de cura e maior tempo de transmissão.⁽⁹⁴⁾

O evento cura foi associado ao maior peso corporal no diagnóstico, não hospitalização, ausência de comorbidades, ausência de cavidade à radiografia de tórax, sem tratamento prévio para tuberculose e ter resistência primária.

A presença de comorbidades se associou a eventos negativos como abandono e óbito, especialmente nos portadores do vírus HIV.

Na análise múltipla, após ajuste para variáveis confundidoras, foi observado que os doentes portadores de TB-MDR com resistência primária, sem comorbidades, sem cavidade bilateral, com maior peso inicial e menor tempo para o diagnóstico de TB-MDR eram os com maior chance de cura após o tratamento inicial de 18 meses. A regressão logística confirmou o esperado na clínica diária, assim o diagnóstico precoce e tratamento adequado, em doentes com boas condições clínicas, favorecem o evento cura.^(9, 94)

Na avaliação longitudinal onde foram comparados os tipos de eventos do desfecho inicial em relação ao desfecho final, observou-se que a taxa de cura, no evento final foi de 58%, isto é, pouco elevou-se em relação a taxa de cura de 54% do desfecho inicial. Estas taxas foram muito baixas para uma doença que até pouco tempo era considerada curável.

No final do acompanhamento ocorreram 40 óbitos (26%), sendo 11 durante o tratamento inicial. A maioria dos óbitos no desfecho final foi decorrente de falência ou abandono no desfecho inicial. A taxa de abandono girou em torno de 8% o que é considerada alta. O resultado elevado de abandono, acima de 5%,⁽²¹⁾ sinaliza a necessidade de otimizar a qualidade do tratamento diretamente observado (TDO). O resultado do tratamento deste estudo assemelhou-se ao publicado pela OMS.⁽⁸⁵⁾

Quanto à evolução das classes de multidroga resistência, no processo evolutivo da coorte, ficou demonstrado que os doentes que migraram para resistências mais estendidas como TB pré-XDR e TB-XDR foram associados aos eventos negativos no desfecho final,^(65, 94, 120, 121) enquanto que aqueles que não migraram de classe e continuaram sendo TB-MDR foram associados ao evento cura no desfecho final. Situação semelhante, de mudança no padrão de resistência, foi observada na coorte acompanhada por Kempker e cols. onde também foi relatada a migração de classes durante o tratamento de TB-MDR, isto é, resistência adquirida.⁽⁸⁹⁾

Foram também analisadas todas as 460 amostras quanto à resistência aos diferentes fármacos disponíveis para o tratamento e observou-se que nesse grupo de doentes, a resistência às drogas do esquema padrão, como pirazinamida, etambutol e estreptomicina, foi maior que 40%. Taxa de resistência elevada para etambutol e pirazinamida, nesse estudo, possivelmente foi reflexo também do uso anterior em tratamentos prévios.

Adicionalmente, a resistência a amicacina e quinolona, que são as drogas mais importantes no esquema de tratamento para TB-MDR giraram em torno de 15 e 26% respectivamente. Este cenário mostra que os doentes desse estudo não foram somente resistentes à rifampicina e isoniazida, portanto todo o perfil de resistência deve ser considerado para escolha de adequado esquema de tratamento.⁽¹²²⁾

Estudo multicêntrico realizado em países de alta incidência de tuberculose observou que resistência à rifampicina associou-se de forma significativa à resistência à pirazinamida, mas felizmente, este fármaco ainda foi efetivo em 19 a 63% dos doentes com resistência à rifampicina.⁽¹²⁶⁾

Van Deun e cols. demonstraram a presença de TS altamente discordantes para rifampicina em doentes em retratamento quando o *M. tuberculosis* apresentava sensibilidade limítrofe. Utilizaram TS baseado em cultura, a presença ou ausência de mutação (*rpoB*) que conferia resistência à rifampicina e associaram com os eventos cura ou falência.

Observaram pela técnica de determinação da concentração inibitória mínima (CIM) que devido a existência de cepas com sensibilidade limítrofe, isto é, um baixo nível de resistência à rifampicina, porém clinicamente relevante e com a presença de mutação no gen *rpoB* que confere resistência a este fármaco, esta resistência pode não ser detectada pelos métodos baseado em cultura, principalmente pelo método BACTEC™ MGIT™ SIRE. Houve doentes que curaram com esquema utilizando rifampicina mesmo albergando cepas com mutação, outros apresentaram falência de tratamento mesmo portando cepas sem mutação e alguns curaram porém com recidiva.⁽²⁾

Estas taxas de resistência são variáveis nos diferentes sítios geográficos e dependem do método fenotípico utilizado. O método BACTEC™ MGIT™ SIRE apresentou a maior discrepância em relação ao etambutol, com elevada taxa de falso sensível por este método, isto é, o resultado real foi bacilo resistente ao etambutol.^{(67,}

^{125, 127)} Discrepância para estreptomicina pode não ser relevante na prática clínica pois hoje a utilizamos pouco, mas para o etambutol, fármaco utilizado no tratamento de TB-MDR, a discrepância pode interferir na melhor conduta terapêutica.

Além disso, a taxa de resistência bacilar à ofloxacina ou levofloxacina pode ser reputada como alta, e deve-se levar em consideração o uso excessivo de fluoroquinolonas em outras doenças respiratórias infecciosas. Acreditamos que a utilização racional desta classe de antibióticos deve ser assegurada para preservar a sua eficácia na tuberculose.^(126, 128) Possivelmente estaria sendo reproduzida a experiência anterior como a resistência à estreptomicina.

Das amostras testadas para amicacina, kanamicina e capreomicina foram resistentes 14%, 22% e 14%, respectivamente. Relevante observar a concomitância de resistência bacilar a estes fármacos, onde 15 amostras foram resistentes à capreomicina e kanamicina, 10 amostras resistentes à amicacina e kanamicina e apenas cinco amostras resistentes somente à amicacina.

Na prática clínica, o TS fenotípico é a ferramenta que está disponível para auxiliar a escolha do esquema de tratamento adequado, portanto há necessidade de entendê-lo mais profundamente. Os TS não são completamente reprodutíveis, mesmo quando realizados por laboratórios de referência e a discordância pode ser ainda maior quando as cepas avaliadas são resistentes.^(67, 123, 124)

Os TS fenotípicos mesmo com relevantes limitações, permanece o padrão ouro para a determinação da sensibilidade do *Mycobacterium tuberculosis* aos fármacos.^(6, 36) Médicos e pessoal de laboratório devem estar cientes da metodologia em uso e possíveis discordâncias com outros métodos. A complexidade destes doentes com TB-MDR e desenvolvimento e aprimoramento de novos testes de sensibilidade tendem a aumentar. É indispensável associar ao TS fenotípico a história medicamentosa de cada doente, conhecer as taxas de resistência bacilar local, manter rigoroso controle de qualidade laboratorial e profissionais experientes no manejo destes doentes.^(36, 124, 125) Associar ao TS fenotípico, inclusive o CIM, a informação genotípica e combiná-lo com dados de vigilância podem ser uma relevante ferramenta para evitar evolução epidêmica da TB-MDR e melhorar o resultado do tratamento.^(24, 135)

A seguir, foram incluídos na análise apenas os doentes que possuíam duas ou mais culturas com TS fenotípico. Isto permitiu observar a existência da variabilidade

do padrão de sensibilidade ao binômio rifampicina-isoniazida, no mesmo episódio da doença tuberculosa, ao longo do tempo. Em outras palavras, doentes que inicialmente apresentaram bacilos resistentes a estas drogas e na evolução tornaram-se sensíveis e algumas vezes retornaram ao padrão de resistência inicial. Esta variabilidade foi associada a eventos desfavoráveis como óbito e falência e é conhecida como heterorresistência fenotípica.^(32, 89)

A heterorresistência encontrada através do TS fenotípico no mesmo doente e a discrepância com os achados clínicos podem ter várias explicações como infecção mista^(35, 49, 54) isto é, bacilos sensíveis e resistentes coexistindo no mesmo doente, reinfecção latente,^(31, 129) reinfecção exógena ou diversidade clonal de um mesmo bacilo, por mutações compensatórias.⁽³⁷⁾ É interessante ressaltar que esses fenômenos não são necessariamente excludentes.^(119, 130)

Frank A. Post e cols em seu trabalho encontraram populações bacilares heterogêneas no mesmo episódio de TB-MDR em tratamento, com cepas sensíveis e e resistentes, e sugeriram ampliar o esquema de tratamento de TB-MDR associando drogas de primeira linha.⁽¹³¹⁾

A exposição prévia dos bacilos a tantos fármacos provocando mutações compensatórias e a interferência destas mutações sobre as características fenotípicas do bacilo, o que caracteriza a epistasia, podem ser responsáveis pela baixa taxa de cura no desfecho final quando usamos o TS fenotípico para orientar um esquema medicamentoso. Esta situação pode ser agravada quando associada uma reinfecção exógena gerando diversidade bacilar que não pode ser precisamente diagnosticada apenas por TS fenotípico e que, possivelmente, torna o manejo destes doentes muito mais complexo e difícil.^(28, 38, 39, 134) Estudo realizado na China e África do Sul mostrou associação de presença de cavidade, maior número de tratamentos prévios, maior número de casos de TB-MDR, pré-XDR e XDR com a existência de infecções com diferentes cepas de *M. tuberculosis*.^(35, 54) É possível que maior heterogeneidade da população bacilar provoque diminuição da confiabilidade dos resultados dos TS fenotípico.

A análise fenotípica ou genotípica de diversas amostras de escarro de um mesmo doente pode melhorar o diagnóstico de heterorresistência e deve-se também considerar que uma única cultura pode não expressar toda a população bacilar, pois está se fazendo uma análise pontual de um fenômeno dinâmico^(30, 131-133)

Houve seis casos (7%) de recidiva, que aconteceram entre dois a seis anos após a cura. Todos inicialmente foram considerados como resistência adquirida, porém não podemos descartar uma reinfecção exógena o que significaria resistência primária ou transmitida.⁽⁸⁹⁾ Infelizmente apenas três doentes repetiram o TS fenotípico neste novo episódio da doença.

Interessante notar que os casos tratados com EI, EIR ou EB não reincidiram, diferentemente do que foi observado em outros estudos nos quais a taxa de recidiva foi elevada.^(103, 119) As recidivas aconteceram em dois doentes que receberam esquema clássico e quatro doentes que receberam EIII. Os quatro doentes que no primeiro episódio de TB-MDR usaram EIII, isto é estreptomicina, etambutol, pirazinamida e etionamida, haviam realizado TS fenotípico apenas para drogas de 1º linha e eram sensíveis à estreptomicina e etambutol e com resistência apenas à rifampicina e isoniazida. Este fato corrobora informação anterior em relação à confiabilidade e reprodutibilidade do TS fenotípico para etambutol e estreptomicina. Deste modo, com o uso prévio de estreptomicina e etambutol, alta taxa de resistência bacilar pelo TS fenotípico e recidivas, julga-se inadequado o uso destes fármacos em esquemas de tratamento padronizados pelo PNCT-MS para TB-MDR, conduta esta também sugerida pela OMS.

Várias razões poderiam explicar o fato de não ter havido mais recidivas mesmo quando os esquemas não compatíveis com o TS fenotípico foram utilizados: não havia resistência completa aos fármacos do esquema de tratamento utilizado;⁽¹¹⁹⁾ o doente é tratado com associação de fármacos, por longo período, e sabe-se que características imunológicas do hospedeiro e de patogenicidade do bacilo também contribuem para um evento favorável ou não, portanto, não se deve atribuir ao TS fenotípico de um único fármaco um resultado clínico;⁽¹²⁵⁾ o baixo nível de resistência do bacilo à rifampicina, pode explicar a ausência de recidiva dos doentes que foram tratados com EI ou EB.⁽¹²³⁾ Talvez para aumentar a precisão, bem como a relevância clínica do TS fenotípico associar o valor da concentração inibitória mínima (CIM)^(36, 67, 88, 135) pode ser um excelente recurso nos casos de TB-MDR⁽¹³⁶⁾. Outro ponto a ser considerado seria a evolução compensatória com recuperação da capacidade adaptativa do bacilo resistente.⁽²⁷⁾ E finalmente a diferença entre ação da droga *in vitro* sobre o bacilo e evolução clínica do doente. Sabe-se que curar e recidivar não depende somente da resistência bacilar ao fármaco utilizado, também pode ser por

reinfeção, da mesma forma que existe cura espontânea independente de tratamento ou resistência.⁽¹¹⁸⁾

Esse estudo tem algumas limitações a serem discutidas, primeiro quanto ao delineamento retrospectivo onde as informações foram retiradas dos prontuários de doentes atendidos por diferentes médicos, porém todas as informações relevantes foram pontuadas em um relatório estruturado, previamente estabelecido, no sentido de minimizar os possíveis vieses. Deve-se considerar também o fato da pesquisa ter sido realizada em um centro de referência terciária no tratamento da tuberculose, o que pode levar a um viés de seleção e dificultar a generalização dos nossos resultados. Outro ponto é que as informações foram fornecidas pelo próprio doente o que poderia gerar viés de informação, tanto do tipo viés de memória ou de rejeição social, mas as respostas foram checadas e validadas por perguntas associadas dentro do próprio relatório estruturado. Outra questão foi não ter TS fenotípico para os fármacos de primeira e segunda linha, concomitantemente, para todos os doentes no início do tratamento de TB-MDR o que poderia implicar na precisão da taxa de resistência primária. Finalmente, não ter sido realizado TS molecular impediu obter conclusões mais definitivas sobre heterorresistência.^(44, 89)

Proposta de trabalho futuro:

Deve-se considerar como prioridade linhas de investimento e de pesquisa, os estudos que possibilitem avaliar o significado clínico da heterorresistência bacilar e suas consequentes implicações no diagnóstico e tratamento.

1. Estudo molecular com doentes que no momento do diagnóstico de TB-MDR, tenham TS fenotípico para drogas de primeira e segunda linha e desta forma avançar no esclarecimento da resistência bacilar.
2. Estudo da verdadeira taxa de TB-MDR primária em São Paulo, com realização universal de TS fenotípico para fármacos de 1º e 2º linha antes de iniciar o primeiro tratamento de tuberculose.
3. Estudo prospectivo com realização de TS fenotípico, MGIT 960, MIC e genotipagem bacilar (as linhagens e mutações de resistência) todos da mesma amostra inicial e durante o tratamento, com o objetivo de compreender melhor a evolução da resistência bacilar e, conseqüentemente adequar o esquema medicamentoso elevando a taxa de cura.

7. CONCLUSÕES

Tempo de tísica-MDR, ausência de cavidade bilateral, os doentes que se apresentaram com maior peso inicial, sem comorbidade e com TB-MDR primária foram considerados como fatores preditivos associados à cura da TB-MDR no primeiro tratamento;

Principais características demográficas, clínicas e radiológicas de acordo com os eventos após o primeiro tratamento para TB-MDR:

1. Quanto ao evento cura houve associação negativa com o doente ter sido privado de liberdade em algum momento do tratamento e associação positiva com o tempo de tísica-MDR menor, média do peso inicial foi maior, não hospitalização, virgens de tratamento para tuberculose (sem esquema prévio de tratamento), portadores de resistência primária, sem comorbidade e nos achados radiológicos ausência de cavidade pulmonar e lesão parenquimatosa unilateral;

2. Quanto ao evento desfavorável, óbito e falência, houve associação com o tempo de acompanhamento da doença menor, portadores de resistência adquirida e presença de cavidade pulmonar (uni ou bilateral). A taxa de abandono se manteve elevada tanto no evento inicial como no final.

Na evolução do padrão de resistência ao longo do tempo observou-se que os doentes que permaneceram TB-MDR tiveram maior proporção de cura e menor proporção óbito. Os doentes que migraram para TB pré-XDR e TB-XDR, houve redução proporcional da cura conforme aumentou a extensão da resistência e bem como houve aumento da proporção de óbitos, especialmente na migração para TB pré-XDR.

Finalmente, quanto à heterorresistência fenotípica apresentada pelo binômio rifampicina-isoniazida, em relação a todas as amostras de cada doente, observou-se que a resistência heterogênea à dupla rifampicina-isoniazida ao longo do tempo associou-se aos eventos negativos (falência e óbito), enquanto a resistência homogênea ao evento cura do desfecho final.

8. REFERÊNCIAS

1. WHO. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. World Health Organization, 2006:174.
2. van Deun A, Barrera L, Bastian I, Fattorini L, Hoffmann H, Kam KM, et al. Mycobacterium tuberculosis strains with highly discordant rifampin susceptibility test results. J Clin Microbiol 2009; 47:3501-6.
3. WHO. Anti-tuberculosis drug resistance in the world: fourth global report. In: Data WLC-i-P, ed. Geneva: World Health Organization, 2008:151.
4. FIOCRUZ-SVS-MS. SITETB. Rio de Janeiro: CRHF-SVS-MS, 2013.
5. Saúde Md. Sistema de Vigilância da TB-MDR do Ministério da Saúde. Banco de dados da VE TBMR, Centro de Referência Hélio Fraga. Rio de Janeiro: Banco de dados da VE TBMR, Centro de Referência Hélio Fraga, 2007: <http://tbmr.ensp.fiocruz.br/tbmr/Login>
6. WHO. GLOBAL Tuberculosis Report 2015. 2015:204.
7. WHO. GLOBAL Tuberculosis Control. World Health Organization, 2011:246.
8. Saúde Md. Boletim Epidemiológico. 43: Secretaria de Vigilância em Saúde - Ministério da Saúde, 2012.
9. Gandhi NR, Moll A, Sturm AW, Pawinski R, Govender T, Lalloo U, et al. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. Lancet 2006; 368:1575-80.
10. Saúde Md. Boletim Epidemiológico 2015.
11. CDC. Extensively drug-resistant tuberculosis--United States, 1993-2006. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2007; 56:250-3.
12. CDC. Extensively drug-resistant tuberculosis Center for Disease Control and Prevention, 2007.
13. Goldman RC, Plumley KV, Laughon BE. The evolution of extensively drug resistant tuberculosis (XDR-TB): history, status and issues for global control. Infect Disord Drug Targets 2007; 7:73-91.
14. Gandhi NR, Shah NS, Andrews JR, Vella V, Moll AP, Scott M, et al. HIV coinfection in multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis results in high early mortality. Am J Respir Crit Care Med 2010; 181:80-6.
15. WHO. Multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) up to date. 2013.

16. WHO. GLOBAL Tuberculosis report. World Health Organization, 2012:89.
17. WHO. Multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) up to date. 2014.
18. WHO. GLOBAL Tuberculosis Report. 2014.
19. Dalcolmo M. Sistema de Vigilância da TBMR. Rio de Janeiro: CRHF-SVS-MS, 2003.
20. Saúde Md. Boletim Epidemiológico. 2014; 44.
21. Saúde Md. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde - Ministério da Saúde, 2011:284.
22. Young D, Stark J, Kirschner D. Systems biology of persistent infection: tuberculosis as a case study. *Nat Rev Microbiol* 2008; 6:520-8.
23. Zak DE, Aderem A. Systems biology of innate immunity. *Immunol Rev* 2009; 227:264-82.
24. Comas I, Gagneux S. The past and future of tuberculosis research. *PLoS Pathog* 2009; 5:e1000600.
25. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 1998; 393:537-44.
26. Heym B, Honore N, Truffot-Pernot C, Banerjee A, Schurra C, Jacobs WR, Jr., et al. Implications of multidrug resistance for the future of short-course chemotherapy of tuberculosis: a molecular study. *Lancet* 1994; 344:293-8.
27. Borrell S, Gagneux S. Infectiousness, reproductive fitness and evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13:1456-66.
28. Hofmann-Thiel S, van Ingen J, Feldmann K, Turaev L, Uzakova GT, Murmusaeva G, et al. Mechanisms of heteroresistance to isoniazid and rifampin of *Mycobacterium tuberculosis* in Tashkent, Uzbekistan. *Eur Respir J* 2009; 33:368-74.
29. Kumar P, Balooni V, Sharma BK, Kapil V, Sachdeva KS, Singh S. High degree of multi-drug resistance and hetero-resistance in pulmonary TB patients from Punjab state of India. *Tuberculosis (Edinb)* 2014; 94:73-80.
30. Rinder H. Hetero-resistance: an under-recognised confounder in diagnosis and therapy? *J Med Microbiol* 2001; 50:1018-20.

31. van Rie A, Victor TC, Richardson M, Johnson R, van der Spuy GD, Murray EJ, et al. Reinfection and mixed infection cause changing *Mycobacterium tuberculosis* drug-resistance patterns. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:636-42.
32. Zetola NM, Modongo C, Moonan PK, Ncube R, Matlhagela K, Sepako E, et al. Clinical outcomes among persons with pulmonary tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis* isolates with phenotypic heterogeneity in results of drug-susceptibility tests. *J Infect Dis* 2014; 209:1754-63.
33. Zheng C, Li S, Luo Z, Pi R, Sun H, He Q, et al. Mixed Infections and Rifampin Heteroresistance among *Mycobacterium tuberculosis* Clinical Isolates. *J Clin Microbiol* 2015; 53:2138-47.
34. Noguti EN, Leite CQ, Malaspina AC, Santos AC, Hirata RD, Hirata MH, et al. Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from a low-endemic setting in northwestern state of Parana in Southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2010; 105:779-85.
35. Hu Y, Zhao Q, Werngren J, Hoffner S, Diwan VK, Xu B. Drug resistance characteristics and cluster analysis of *M. tuberculosis* in Chinese patients with multiple episodes of anti-tuberculosis treatment. *BMC Infect Dis* 2016; 16:4.
36. Dominguez J, Boettger EC, Cirillo D, Cobelens F, Eisenach KD, Gagneux S, et al. Clinical implications of molecular drug resistance testing for *Mycobacterium tuberculosis*: a TBNET/RESIST-TB consensus statement. *Int J Tuberc Lung Dis* 2016; 20:24-42.
37. Gagneux S, Long CD, Small PM, Van T, Schoolnik GK, Bohannan BJ. The competitive cost of antibiotic resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Science* 2006; 312:1944-6.
38. Phillips PC. Epistasis - the essential role of gene interactions in the structure and evolution of genetic systems. *Nat Rev Genet* 2008; 9:855-67.
39. Borrell S, Gagneux S. Strain diversity, epistasis and the evolution of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17:815-20.
40. Merker M, Kohl TA, Roetzer A, Truebe L, Richter E, Rusch-Gerdes S, et al. Whole genome sequencing reveals complex evolution patterns of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains in patients. *PLoS One* 2013; 8:e82551.
41. Zignol M, Dara M, Dean AS, Falzon D, Dadu A, Kremer K, et al. Drug-resistant tuberculosis in the WHO European Region: an analysis of surveillance data. *Drug Resist Updat* 2013; 16:108-15.

42. Martin A, Herranz M, Navarro Y, Lasarte S, Ruiz Serrano MJ, Bouza E, et al. Evaluation of the inaccurate assignment of mixed infections by *Mycobacterium tuberculosis* as exogenous reinfection and analysis of the potential role of bacterial factors in reinfection. *J Clin Microbiol* 2011; 49:1331-8.
43. de Boer AS, Borgdorff MW, de Haas PE, Nagelkerke NJ, van Embden JD, van Soolingen D. Analysis of rate of change of IS6110 RFLP patterns of *Mycobacterium tuberculosis* based on serial patient isolates. *J Infect Dis* 1999; 180:1238-44.
44. Cohen T, van Helden PD, Wilson D, Colijn C, McLaughlin MM, Abubakar I, et al. Mixed-strain *mycobacterium tuberculosis* infections and the implications for tuberculosis treatment and control. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25:708-19.
45. Caminero JA, Pena MJ, Campos-Herrero MI, Rodriguez JC, Afonso O, Martin C, et al. Exogenous reinfection with tuberculosis on a European island with a moderate incidence of disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163:717-20.
46. Adjers-Koskela K, Katila ML. Susceptibility testing with the manual *mycobacteria* growth indicator tube (MGIT) and the MGIT 960 system provides rapid and reliable verification of multidrug-resistant tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2003; 41:1235-9.
47. Heep M, Brandstatter B, Rieger U, Lehn N, Richter E, Rusch-Gerdes S, et al. Frequency of *rpoB* mutations inside and outside the cluster I region in rifampin-resistant clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J Clin Microbiol* 2001; 39:107-10.
48. de Almeida E, dos Santos M, Afiune J, Espada D, de Melo F. Rendimento da cultura de escarro na comparação de um sistema de diagnóstico automatizado com o meio de Lowenstein- Jensen para o diagnóstico de tuberculose pulmonar. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* 2005; 31:231-6.
49. Mei Z, Sun Z, Bai D, Xu Y, Li Z, Huang H, et al. Discrepancies in Drug Susceptibility Test for Tuberculosis Patients Resulted from the Mixed Infection and the Testing System. *Biomed Res Int* 2015; 2015:651980.
50. Zetola NM, Shin SS, Tumedí KA, Moeti K, Ncube R, Nicol M, et al. Mixed *Mycobacterium tuberculosis* complex infections and false-negative results for rifampin resistance by GeneXpert MTB/RIF are associated with poor clinical outcomes. *J Clin Microbiol* 2014; 52:2422-9.
51. Yeh RW, Hopewell PC, Daley CL. Simultaneous infection with two strains of *Mycobacterium tuberculosis* identified by restriction fragment length polymorphism analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999; 3:537-9.
52. Das S, Narayanan S, Hari L, Mohan NS, Somasundaram S, Selvakumar N, et al. Simultaneous infection with multiple strains of *Mycobacterium tuberculosis*

identified by restriction fragment length polymorphism analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004; 8:267-70.

53. Fang R, Li X, Li J, Wu J, Shen X, Gui X, et al. Mixed infections of *Mycobacterium tuberculosis* in tuberculosis patients in Shanghai, China. *Tuberculosis (Edinb)* 2008; 88:469-73.
54. Warren RM, Victor TC, Streicher EM, Richardson M, Beyers N, Gey van Pittius NC, et al. Patients with active tuberculosis often have different strains in the same sputum specimen. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169:610-4.
55. Kruuner A, Pehme L, Ghebremichael S, Koivula T, Hoffner SE, Mikelsaar M. Use of molecular techniques to distinguish between treatment failure and exogenous reinfection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Infect Dis* 2002; 35:146-55.
56. Bauer J, Yang Z, Poulsen S, Andersen AB. Results from 5 years of nationwide DNA fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates in a country with a low incidence of *M. tuberculosis* infection. *J Clin Microbiol* 1998; 36:305-8.
57. Small PM, Hopewell PC, Singh SP, Paz A, Parsonnet J, Ruston DC, et al. The epidemiology of tuberculosis in San Francisco. A population-based study using conventional and molecular methods. *N Engl J Med* 1994; 330:1703-9.
58. Cohen T, Wilson D, Wallengren K, Samuel EY, Murray M. Mixed-strain *Mycobacterium tuberculosis* infections among patients dying in a hospital in KwaZulu-Natal, South Africa. *J Clin Microbiol* 2011; 49:385-8.
59. Click ES, Moonan PK, Winston CA, Cowan LS, Oeltmann JE. Relationship between *Mycobacterium tuberculosis* phylogenetic lineage and clinical site of tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2012; 54:211-9.
60. Levin BR. The evolution and maintenance of virulence in microparasites. *Emerg Infect Dis* 1996; 2:93-102.
61. Fenner L, Gagneux S, Helbling P, Battegay M, Rieder HL, Pfyffer GE, et al. *Mycobacterium tuberculosis* transmission in a country with low tuberculosis incidence: role of immigration and HIV infection. *J Clin Microbiol* 2011; 50:388-95.
62. Dantas NG, Suffys PN, Carvalho Wda S, Gomes HM, de Almeida IN, de Assis LJ, et al. Genetic diversity and molecular epidemiology of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Minas Gerais State, Brazil. *BMC Infect Dis* 2015; 15:306.
63. Vasconcellos SE, Acosta CC, Gomes LL, Conceicao EC, Lima KV, de Araujo MI, et al. Strain classification of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Brazil based on genotypes obtained by spoligotyping, mycobacterial interspersed

repetitive unit typing and the presence of large sequence and single nucleotide polymorphism. PLoS One 2014; 9:e107747.

64. WHO. New laboratory diagnostic tools for tuberculosis control. 2008.
65. Pinto L, Menzies D. Treatment of drug-resistant tuberculosis. Infect Drug Resist 2011; 4:129-35.
66. Kim SJ. Drug-susceptibility testing in tuberculosis: methods and reliability of results. Eur Respir J 2005; 25:564-9.
67. van Deun A, Wright A, Zignol M, Weyer K, Rieder HL. Drug susceptibility testing proficiency in the network of supranational tuberculosis reference laboratories. Int J Tuberc Lung Dis 2011; 15:116-24.
68. Saúde Md. Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias. Brasília: Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias, 2008:436.
69. Canetti G, Froman S, Grosset J, Hauduroy P, Langerova M, Mahler HT, et al. Mycobacteria: Laboratory Methods for Testing Drug Sensitivity and Resistance. Bull World Health Organ 1963; 29:565-78.
70. Canetti G, Fox W, Khomenko A, Mahler HT, Menon NK, Mitchison DA, et al. Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity, and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programmes. Bull World Health Organ 1969; 41:21-43.
71. van Deun A, Martin A, Palomino JC. Diagnosis of drug-resistant tuberculosis: reliability and rapidity of detection. Int J Tuberc Lung Dis 2010; 14:131-40.
72. Palomino JC, Martin A, Camacho M, Guerra H, Swings J, Portaels F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46:2720-2.
73. Miyata M. Construção de um painel com isolados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* com genes de resistência a quimioterápicos, para o estudo de novas drogas anti-TB [tese]. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Araraquara: Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", 2010:119.
74. Cole ST. Mycobacterium tuberculosis: drug-resistance mechanisms. Trends Microbiol 1994; 2:411-5.
75. Mitchison DA, Nunn AJ. Influence of initial drug resistance on the response to short-course chemotherapy of pulmonary tuberculosis. Am Rev Respir Dis 1986; 133:423-30.

76. Lam E, Nateniyom S, Whitehead S, Anuwatnonthakate A, Monkongdee P, Kanphukiew A, et al. Use of drug-susceptibility testing for management of drug-resistant tuberculosis, Thailand, 2004-2008. *Emerg Infect Dis* 2014; 20:400-8.
77. WHO. WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis. In: WHO, ed. update. Geneva: WHO Library Cataloging-in-Publication Date, 2016:55.
78. WHO. Treatment of tuberculosis: Guidelines. In: ed., ed: WHO/HTM/TB, 2009:420.
79. Paulo Sd Ed. TB-WEB Sistema de Controle de pacientes com Tuberculose. São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo, 2015. <http://www.cvetb.saude.sp.gov.br/tbweb/index.jsp>.
80. van Rie A, Warren R, Richardson M, Gie RP, Enarson DA, Beyers N, et al. Classification of drug-resistant tuberculosis in an epidemic area. *Lancet* 2000; 356:22-5.
81. Klopper M, Warren RM, Hayes C, Gey van Pittius NC, Streicher EM, Muller B, et al. Emergence and spread of extensively and totally drug-resistant tuberculosis, South Africa. *Emerg Infect Dis* 2013; 19:449-55.
82. Muller B, Chihota VN, Pillay M, Klopper M, Streicher EM, Coetzee G, et al. Programmatically selected multidrug-resistant strains drive the emergence of extensively drug-resistant tuberculosis in South Africa. *PLoS One* 2013; 8:e70919.
83. Jubulis J, Dionne K, Osterhout G, Ayuk L, Awasom C, Achu P, et al. Mycobacterium tuberculosis resistance in pulmonary TB patients in Cameroon: a phenotypic susceptibility assay. *Int J Tuberc Lung Dis* 2015; 19:823-7.
84. Saúde Md. Tuberculose Guia de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Ministério da Saúde, 2002:100.
85. WHO. Definitions and reporting framework for tuberculosis – 2013 revision (updated December 2014). 2013.
86. Zimbro M, Power D, Miller S, Wilson G, Johnson J. Difco & BBL Manual - Manual of Microbiological Culture Media. Sparks, Maryland: Becton, Dickinson and Company, 1998:686.
87. de Melo FA, Afiune JB, Ide Neto J, de Almeida EA, Spada DT, Antelmo AN, et al. [Epidemiological features of multidrug-resistant tuberculosis in a reference service in Sao Paulo city]. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36:27-34.
88. Heysell SK, Ahmed S, Ferdous SS, Khan MS, Rahman SM, Gratz J, et al. Quantitative drug-susceptibility in patients treated for multidrug-resistant

- tuberculosis in Bangladesh: implications for regimen choice. *PLoS One* 2015; 10:e0116795.
89. Kempker RR, Kipiani M, Mirtskhulava V, Tukvadze N, Magee MJ, Blumberg HM. Acquired Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis* and Poor Outcomes among Patients with Multidrug-Resistant Tuberculosis. *Emerg Infect Dis* 2015; 21:992-1001.
 90. Stuckler D, Basu S, McKee M, King L. Mass incarceration can explain population increases in TB and multidrug-resistant TB in European and central Asian countries. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105:13280-5.
 91. Baussano I, Williams BG, Nunn P, Beggiato M, Fedeli U, Scano F. Tuberculosis incidence in prisons: a systematic review. *PLoS Med* 2010; 7:e1000381.
 92. Bollela VR, Puga FG, Moya MJ, Andrea M, Oliveira ML. A Decade Trend of Multidrug Resistant Tuberculosis in Sao Paulo State, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2016; 58:77.
 93. Shin SS, Keshavjee S, Gelmanova IY, Atwood S, Franke MF, Mishustin SP, et al. Development of extensively drug-resistant tuberculosis during multidrug-resistant tuberculosis treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182:426-32.
 94. Milanov V, Falzon D, Zamfirova M, Varleva T, Bachiyska E, Koleva A, et al. Factors associated with treatment success and death in cases with multidrug-resistant tuberculosis in Bulgaria, 2009-2010. *Int J Mycobacteriol* 2015; 4:131-7.
 95. Mitnick CD, White RA, Lu C, Rodriguez CA, Bayona J, Becerra MC, et al. Multidrug-resistant tuberculosis treatment failure detection depends on monitoring interval and microbiological method. *Eur Respir J* 2016; 48:1160-70.
 96. Kurbatova EV, Gammino VM, Bayona J, Becerra MC, Danilovitz M, Falzon D, et al. Predictors of sputum culture conversion among patients treated for multidrug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2012; 16:1335-43.
 97. Kurbatova EV, Cegielski JP, Lienhardt C, Akksilp R, Bayona J, Becerra MC, et al. Sputum culture conversion as a prognostic marker for end-of-treatment outcome in patients with multidrug-resistant tuberculosis: a secondary analysis of data from two observational cohort studies. *Lancet Respir Med* 2015; 3:201-9.
 98. Lu P, Liu Q, Martinez L, Yang H, Lu W, Ding X, et al. Time to sputum culture conversion and treatment outcome of patients with multidrug-resistant tuberculosis: a prospective cohort study from urban China. *Eur Respir J* 2017; 49.

99. Matos ED, Lemos AC, Bittencourt C, Mesquita CL. Anti-tuberculosis drug resistance in strains of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from patients in a tertiary hospital in Bahia. *Braz J Infect Dis* 2007; 11:331-8.
100. da Silva Garrido M, Ramasawmy R, Perez-Porcuna TM, Zaranza E, Chrusciak Talhari A, Martinez-Espinosa FE, et al. Primary drug resistance among pulmonary treatment-naïve tuberculosis patients in Amazonas State, Brazil. *Int J Tuberc Lung Dis* 2014; 18:559-63.
101. de Souza MB, Antunes CM, Garcia GF. Multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* at a referral center for infectious diseases in the state of Minas Gerais, Brazil: sensitivity profile and related risk factors. *J Bras Pneumol* 2006; 32:430-7.
102. Primary multidrug-resistant tuberculosis—Ivanovo Oblast, Russia, 1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1999; 48:661-4.
103. Lew W, Pai M, Oxlade O, Martin D, Menzies D. Initial drug resistance and tuberculosis treatment outcomes: systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 2008; 149:123-34.
104. Odone A, Calderon R, Becerra MC, Zhang Z, Contreras CC, Yataco R, et al. Acquired and Transmitted Multidrug Resistant Tuberculosis: The Role of Social Determinants. *PLoS One* 2016; 11:e0146642.
105. WHO. Drug resistance among new cases is used to evaluate recent transmission referencia Anti-tuberculosis drug resistance in the world: fourth global report. WHO, 2008:394.
106. Gunther G, van Leth F, Alexandru S, Altet N, Avsar K, Bang D, et al. Multidrug-resistant tuberculosis in Europe, 2010-2011. *Emerg Infect Dis* 2015; 21:409-16.
107. Vieira R, Fregona G, Palaci M, Dietze R, Maciel E. Perfil epidemiológico dos casos de tuberculose multirresistente do Espírito Santo. *Revista Brasileira de Epidemiologia* 2007; 10:56-65.
108. Ferrazoli L, Palaci M, Marques LR, Jamal LF, Afiune JB, Chimara E, et al. Transmission of tuberculosis in an endemic urban setting in Brazil. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4:18-25.
109. Wang SF, Zhou Y, Pang Y, Zheng HW, Zhao YL. Prevalence and Risk Factors of Primary Drug-Resistant Tuberculosis in China. *Biomed Environ Sci* 2016; 29:91-8.
110. Davies P, Gordon S, Davies G. *Clinical Tuberculosis*. 5ª ed ed: CRC Press; 2014.

111. Valin A. Epidemiologia molecular da tuberculose resistente a múltiplos fármacos no Rio Grande do Sul. Programa de Pós Graduação em Biologia Molecular. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.
112. Magee MJ, Bloss E, Shin SS, Contreras C, Huaman HA, Ticona JC, et al. Clinical characteristics, drug resistance, and treatment outcomes among tuberculosis patients with diabetes in Peru. *Int J Infect Dis* 2013; 17:e404-12.
113. Fisher-Hoch SP, Whitney E, McCormick JB, Crespo G, Smith B, Rahbar MH, et al. Type 2 diabetes and multidrug-resistant tuberculosis. *Scand J Infect Dis* 2008; 40:888-93.
114. Yuen CM, Kurbatova EV, Tupasi T, Caoili JC, Van Der Walt M, Kvasnovsky C, et al. Association between Regimen Composition and Treatment Response in Patients with Multidrug-Resistant Tuberculosis: A Prospective Cohort Study. *PLoS Med* 2015; 12:e1001932.
115. WHO. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing: WHO report 2017. Geneva: WHO, 2007:270p.
116. Migliori GB, Sotgiu G, Jaramillo E, Mirzayev F, Centis R, Colvin C, et al. Development of a standardised multidrug-resistant/extensively drug-resistant tuberculosis assessment and monitoring tool. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13:1305-8.
117. Cegielski JP, Dalton T, Yagui M, Wattanaamornkiet W, Volchenkov GV, Via LE, et al. Extensive drug resistance acquired during treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2014; 59:1049-63.
118. Espinal MA, Kim SJ, Suarez PG, Kam KM, Khomenko AG, Migliori GB, et al. Standard short-course chemotherapy for drug-resistant tuberculosis: treatment outcomes in 6 countries. *JAMA* 2000; 283:2537-45.
119. Migliori GB, Espinal M, Danilova ID, Punga VV, Grzemska M, Raviglione MC. Frequency of recurrence among MDR-tB cases 'successfully' treated with standardised short-course chemotherapy. *Int J Tuberc Lung Dis* 2002; 6:858-64.
120. Cox HS, Sibilia K, Feuerriegel S, Kalon S, Polonsky J, Khamraev AK, et al. Emergence of extensive drug resistance during treatment for multidrug-resistant tuberculosis. *N Engl J Med* 2008; 359:2398-400.
121. Arbex MA, Siqueira HR, D'Ambrosio L, Migliori GB. The challenge of managing extensively drug-resistant tuberculosis at a referral hospital in the state of Sao Paulo, Brazil: a report of three cases. *J Bras Pneumol* 2015; 41:554-9.

122. Kim J, Kwak N, Lee HY, Kim TS, Kim CK, Han SK, et al. Effect of drug resistance on negative conversion of sputum culture in patients with pulmonary tuberculosis. *Int J Infect Dis* 2016; 42:64-8.
123. Angra PK, Taylor TH, Iademarco MF, Metchock B, Astles JR, Ridderhof JC. Performance of tuberculosis drug susceptibility testing in U.S. laboratories from 1994 to 2008. *J Clin Microbiol* 2012; 50:1233-9.
124. WHO. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis: Geneva: WHO, 2008:402.
125. Banu S, Rahman SM, Khan MS, Ferdous SS, Ahmed S, Gratz J, et al. Discordance across several methods for drug susceptibility testing of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in a single laboratory. *J Clin Microbiol* 2014; 52:156-63.
126. Zignol M, Dean AS, Alikhanova N, Andres S, Cabibbe AM, Cirillo DM, et al. Population-based resistance of *Mycobacterium tuberculosis* isolates to pyrazinamide and fluoroquinolones: results from a multicountry surveillance project. *Lancet Infect Dis* 2016; 16:1185-92.
127. Kruuner A, Yates MD, Drobniewski FA. Evaluation of MGIT 960-based antimicrobial testing and determination of critical concentrations of first- and second-line antimicrobial drugs with drug-resistant clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 2006; 44:811-8.
128. Jabeen K, Shakoor S, Malik F, Hasan R. Fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Pakistan 2010-2014: Implications for disease control. *Int J Mycobacteriol* 2015; 4 Suppl 1:47-8.
129. Hwang HY, Chang CY, Chang LL, Chang SF, Chang YH, Chen YJ. Characterization of rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Taiwan. *J Med Microbiol* 2003; 52:239-45.
130. Siddiqi N, Shamim M, Hussain S, Choudhary RK, Ahmed N, Prachee, et al. Molecular characterization of multidrug-resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from patients in North India. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:443-50.
131. Post FA, Willcox PA, Mathema B, Steyn LM, Shean K, Ramaswamy SV, et al. Genetic polymorphism in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from patients with chronic multidrug-resistant tuberculosis. *J Infect Dis* 2004; 190:99-106.
132. Martin A, Herranz M, Ruiz Serrano MJ, Bouza E, Garcia de Viedma D. The clonal composition of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens could be modified by culture. *Tuberculosis (Edinb)* 2010; 90:201-7.
133. Shamputa IC, Jugheli L, Sadradze N, Willery E, Portaels F, Supply P, et al. Mixed infection and clonal representativeness of a single sputum sample in

tuberculosis patients from a penitentiary hospital in Georgia. *Respir Res* 2006; 7:99.

134. Ford CB, Shah RR, Maeda MK, Gagneux S, Murray MB, Cohen T, et al. *Mycobacterium tuberculosis* mutation rate estimates from different lineages predict substantial differences in the emergence of drug-resistant tuberculosis. *Nat Genet* 2013; 45:784-90.
135. Trauner A, Borrell S, Reither K, Gagneux S. Evolution of drug resistance in tuberculosis: recent progress and implications for diagnosis and therapy. *Drugs* 2014; 74:1063-72.
136. Schon T, Miotto P, Koser CU, Viveiros M, Bottger E, Cambau E. *Mycobacterium tuberculosis* drug-resistance testing: challenges, recent developments and perspectives. *Clinical Microbiology and Infection* 23 (2017) 154e160

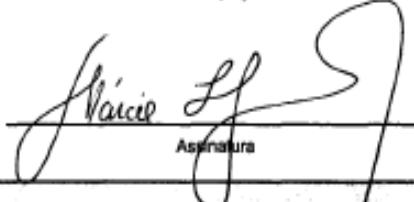
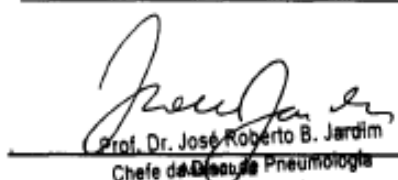
ANEXOS

Anexo 1 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.



MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. Projeto de Pesquisa: RESISTÊNCIA do MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS ASSOCIADO A ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS, CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS E GENOTÍPICAS ISOLADOS CLÍNICOS DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS MULTIDROGARRESISTENTES EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA EM SÃO PAULO		2. Número de Participantes da Pesquisa: 500	
3. Área Temática: Genética Humana: (Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.)			
4. Área do Conhecimento: Grande Área 4. Ciências da Saúde			
PESQUISADOR RESPONSÁVEL			
5. Nome: Marcia Telma Guimarães Savioli			
6. CPF: 003.376.528-64	7. Endereço (Rua, n.º): ESTACIO DE SA SAO PAULO II 1586 COTIA SAO PAULO 06706005		
8. Nacionalidade: BRASILEIRO	9. Telefone: (11) 4702-5540	10. Outro Telefone:	11. Email: mtgs@ucl.com.br
12. Cargo:			
Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumpro os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Tenho ciência que essa folha será anexada ao projeto devidamente assinada por todos os responsáveis e fará parte integrante da documentação do mesmo. Data: <u>14 / 04 / 2014</u>  Assinatura			
INSTITUIÇÃO PROPONENTE			
13. Nome: Universidade Federal de São Paulo	14. CNPJ:	15. Unidade/Órgão: Disciplina de Pneumologia da UNIFESP	
16. Telefone: (11) 5576-4238	17. Outro Telefone:		
Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumpro os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução. Responsável: <u>JOSE R. JARDIM</u> CPF: <u>44881428-00</u> Cargo/Função: <u>Chefe da Disciplina</u> Data: <u>14, Abr, 2014</u>  Prof. Dr. José Roberto B. Jardim Chefe da Disciplina de Pneumologia UNIFESP/EPM CRM. 17.819			
PATROCINADOR PRINCIPAL			
Não se aplica.			

Anexo 2 – Autorização de acesso as informações mantidas pelo Instituto Clemente Ferreira.



Governo do Estado de São Paulo
Secretaria de Estado da Saúde
Coordenadoria de Controle de Doenças
Instituto Clemente Ferreira (Tisiologia e Pneumologia)



São Paulo, 28 de março de 2013.

Ofício DTS Nº 38/2013.

Assunto: Autorização

Senhor Coordenador,

Cumprimentando-o cordialmente, sirvo-me do presente para comunicar que esta autorizado o acesso as informações mantidas por este Instituto pela aluna do curso de Pós-Graduação em Pneumologia da Unifesp, a Dra. Marcia Telma Guimarães Savioli, o qual contempla copiar arquivos, bem como obter amostra biológicas arquivadas na bacterioteca deste Instituto, referente a informações relacionadas aos pacientes que realizaram teste de sensibilidade e antibiograma para investigação de tuberculose no período de 2006 a dezembro de 2010, assim que for aprovado o projeto pelo referido Comitê de Ética em Pesquisa.

Certos de estarmos colaborando com o desenvolvimento científico desta Universidade, renovamos nossos protestos de estima e consideração.

Atenciosamente,


Aglae Neri Gambirasio
Diretor Técnico de Saúde III

Ilmo. Sr.

Prof. Luiz Eduardo Nery

Prof. Associado da Disciplina de Pneumologia da Unifesp

Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Pneumologia da Unifesp

Anexo 3 – Relação do padrão de resistência bacilar das 460 amostras de escarro dos 156 doentes do estudo.

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
1	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
2	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
2	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
2	R	R	R	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
2	R	R	R	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
2	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
2	R	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
2	R	R	R	CTD	NR	S	R	NR	NR	S	R
2	R	R	R	R	NR	S	R	NR	NR	NR	S
3	R	R	S	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
4	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
4	R	R	S	S	R	R	R	R	R	NR	NR
4	R	R	S	S	NR	R	R	R	R	NR	NR
4	R	R	R	S	R	R	R	S	R	NR	NR
4	R	R	S	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
4	R	R	S	S	R	S	R	S	S	NR	NR
4	R	R	R	S	R	S	R	S	S	NR	NR
4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
5	R	R	S	S	R	S	S	S	S	NR	NR
6	R	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
6	S	R	S	CTD	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
6	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
6	R	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
6	R	R	S	S	R	S	S	S	S	R	R
6	R	R	R	R	S	S	S	S	S	NR	NR
6	R	R	S	S	R	S	R	NR	NR	S	S

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
7	R	R	S	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
7	R	R	S	R	NR	S	S	S	S	NR	NR
8	R	R	S	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
9	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
10	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
10	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
10	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
10	R	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
10	R	R	R	R	NR	S	R	S	S	NR	NR
11	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
11	R	R	R	CTD	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
11	R	R	R	R	NR	R	R	S	R	NR	NR
11	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
11	R	R	R	R	R	S	S	S	S	NR	NR
12	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
13	R	R	R	S	R	S	S	S	S	NR	NR
14	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
14	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
14	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
15	R	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
15	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
15	R	R	R	R	NR	S	S	S	S	NR	NR
16	R	R	R	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
16	R	R	R	R	NR	S	S	NR	NR	S	S

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
17	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
17	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
17	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
18	R	R	S	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
18	R	R	S	R	NR	S	S	NR	NR	R	S
18	R	R	S	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
18	R	R	S	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
18	R	R	S	R	S	R	S	S	R	NR	NR
18	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
19	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	NR
19	S	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
19	S	S	S	R	S	S	S	NR	NR	S	S
19	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
19	R	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
20	S	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
20	R	R	S	R	S	S	S	S	S	NR	NR
21	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
21	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
21	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
21	R	R	R	R	NR	S	R	NR	NR	S	S
21	R	R	R	R	NR	S	S	NR	NR	S	R

[illegible]

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
31	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	NR	S
31	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
32	R	R	S	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
32	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
33	R	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
34	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
35	R	R	S	S	NR	S	S	S	S	NR	NR
36	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
36	R	S	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
36	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
37	R	R	S	S	S	S	S	S	S	NR	NR
38	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
39	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
39	R	R	S	R	CTD	NR	NR	NR	NR	NR	NR
39	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
40	R	R	S	R	NR	R	R	S	R	NR	NR
40	R	R	S	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
41	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
42	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
42	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
43	R	R	S	S	R	S	S	S	S	NR	NR
43	R	R	S	S	NR	S	R	S	S	NR	NR
43	R	S	R	S	R	S	S	NR	NR	S	S
43	R	S	R	S	NR	S	S	NR	NR	S	S

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
44	R	R	S	S	S	S	S	NR	NR	NR	S
44	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
44	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
44	R	R	S	S	S	S	S	S	S	NR	NR
44	R	R	S	S	S	S	S	S	S	NR	NR
45	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
45	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
45	R	S	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
45	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
45	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
45	R	R	S	R	S	S	R	S	S	NR	NR
45	R	R	S	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
45	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
46	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
47	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
48	R	R	S	R	R	S	S	R	NR	NR	NR
48	R	R	S	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
48	S	R	S	R	S	S	S	S	R	NR	NR
48	R	R	S	R	S	S	R	S	S	NR	NR
48	R	R	S	R	R	S	R	S	S	NR	NR
49	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
49	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
50	R	R	R	S	R	S	S	S	S	NR	NR
50	R	R	R	S	R	S	S	S	S	NR	NR
51	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
52	R	R	R	CTD	NR	S	S	NR	NR	S	S
53	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
53	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
53	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
54	R	R	S	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
54	R	R	S	S	NR	S	S	S	S	NR	NR
54	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
54	R	R	S	R	S	S	S	S	S	NR	NR
54	R	R	S	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
54	NR	NR	NR	NR	NR	S	S	S	S	NR	NR
55	R	R	S	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
56	R	R	R	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
56	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
57	R	R	R	R	NR	S	S	NR	NR	S	R
57	R	R	R	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
57	R	R	CTD	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
57	R	R	S	R	NR	S	R	S	S	NR	NR
57	R	R	S	R	S	S	R	S	S	NR	NR
57	R	R	S	R	S	S	R	S	S	NR	NR
57	R	R	R	R	R	S	R	R	S	NR	NR

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
58	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
58	R	R	S	R	NR	R	R	R	R	NR	NR
58	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
58	R	R	R	S	S	S	R	S	S	NR	NR
58	R	R	S	S	S	S	S	S	S	NR	NR
58	R	R	S	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
58	R	R	S	S	S	S	R	S	S	NR	NR
58	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
58	R	R	S	S	S	S	R	S	S	NR	NR
59	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
59	R	R	S	S	NR	S	S	S	R	NR	NR
59	R	R	S	R	S	S	S	S	S	NR	NR
59	R	R	S	S	S	S	R	S	S	NR	NR
59	R	R	R	S	S	S	S	S	S	NR	NR
60	S	S	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
60	S	R	S	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
60	R	R	S	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
60	S	R	S	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
60	S IAL	R IAL	S IAL	R IAL	S IAL	NR	NR	NR	NR	NR	NR
60	S	R	S	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
61	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
61	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
62	R	R	R	R	R	S	S	NR	NR	NR	S

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
63	R	R	R	R	R	S	S	NR	NR	NR	S
63	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
63	R	R	R	R	NR	R	R	R	R	NR	NR
63	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
63	R	R	R	R	S	S	S	S	S	NR	NR
63	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
63	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
63	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
64	R	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
64	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
65	R	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
65	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
66	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
67	R	R	R	S	R	S	S	S	S	NR	NR
67	R	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
68	R	R	CTD	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
69	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S
69	R	R	S	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
70	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
71	R	R	CTD	S	NR	S	S	S	S	NR	NR
71	R	R	R	S	R	S	S	S	S	NR	NR
71	S	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
71	R	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
71	R	R	S	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
72	R	S	S	S	NR	S	S	S	S	NR	NR
72	R	R	S	S	R	S	S	S	S	NR	NR
72	R	R	S	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
72	<u>S</u>	<u>R</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>R</u>	<u>S</u>	<u>R</u>	<u>R</u>	<u>R</u>	<u>NR</u>	<u>NR</u>
72	S/S	R/R	R/S	S/S	R/R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
73	S	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
73	S	S	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
73	R	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
73	S	S	S	R	NR	R	S	R	R	NR	NR
73	S	S	S	R	S	S	S	S	S	NR	NR
73	S	S	S	S	S	S	S	S	S	NR	NR
73	S	S	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
73	R	R	S	R	S	S	NR	S	S	NR	NR
73	R	R	S	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
73	R	R	S	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
73	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
73	S	R	S	R	S	S	S	R	S	NR	NR
74	R	R	S	R	NR	S	S	S	S	NR	NR
74	R	R	S	S	NR	S	S	S	S	NR	NR
74	R	R	S	S	NR	S	S	S	S	NR	NR
75	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
75	R	R	S	S	R	S	S	S	S	NR	NR
76	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
77	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
77	S	R	R	S	S	S	S	S	S	NR	NR
78	R	R	S	R	R	R	S	S	S	NR	NR

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
79	R	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
80	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
81	R	R	R	R	R	S	S	NR	NR	S	S
82	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
83	R	R	S	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
83	R	R	S	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
84	R	R	S	S	NR	S	S	S	S	NR	NR
84	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
85	R	R	S	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
86	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
86	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
86	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
87	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
88	R	R	S	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
89	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
89	R	R	S	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
89	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
89	R	R	S	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
89	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
90	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
90	R	R	R	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
90	R	R	CTD	S	NR	S	S	NR	NR	S	S

[illegible]

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
95	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
95	R	R	S	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
95	R	R	S	S	R	S	S	S	S	NR	NR
95	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
95	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
95	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
95	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
96	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
96	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
96	S	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
97	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
98	R	R	R	S	Z	S	S	S	S	NR	NR
99	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
100	R	R	R	R	R	S	S	S	S	NR	NR
101	R	S	S	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
101	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
101	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
101	R	R	S	E	NR	R	R	R	R	NR	NR
101	R	R	S	S	R	R	R	R	R	NR	NR
102	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
102	R	R	S	S	Z	R	S	S	R	NR	NR
102	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
102	R	R	S	S	R	S	R	S	S	NR	NR
103	R	R	S	R	NR	S	S	S	S	NR	NR
104	R	R	S	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
105	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
105	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
105	R	R	CTD	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
105	R	R	R	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
105	R	R	R	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
105	R	R	R	S	NR	S	R	S	S	NR	NR
106	R	R	R	R	NR	S	S	NR	NR	S	R
107	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
107	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
107	R	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
107	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
107	R	R	R	R	NR	S	R	S	R	NR	NR
107	R	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
108	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
108	R	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
109	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
109	S	R	S	S	S	S	S	NR	NR	S	S
109	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
109	R	R	R	S	NR	S	R	NR	NR	S	S
109	R	R	R	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
109	R	R	R	R	NR	R	R	R	R	NR	NR
109	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
109	S	R	S	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
109	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
110	R	R	R	R	R	S	S	S	S	NR	NR
110	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
111	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
111	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
111	R	R	R	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
111	R	R	R	S	NR	S	R	S	S	NR	NR
111	R	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
111	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
112	R	R	R	R	R	S	S	S	S	NR	NR
112	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
112	R	R	S	R	R	S	S	S	R	NR	NR
112	R	R	R	R	R	R	R	R	R	NR	NR
113	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
114	R	R	S	S	S	S	S	S	S	NR	NR
115	R	R	S	S	NR	S	S	S	S	NR	NR
115	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
116	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
117	R	R	S	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
118	R	R	R	S	R	S	S	S	S	NR	NR
119	R	R	S	S	S	S	S	S	S	NR	NR
120	R	R	S	R	R	S	S	NR	NR	S	S
121	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
122	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	CTD
122	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
123	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
124	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
125	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
125	R	R	S	S	NR	S	S	S	S	NR	NR
125	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
125	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
125	R	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
125	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
125	R	R	S	S	S	S	S	S	S	NR	NR
125	R	R	S	S	S	S	S	S	S	NR	NR
126	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
127	R	R	S	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
128	R	R	R	S	NR	S	R	NR	NR	S	S
128	R	R	S	R	NR	NR	S	S	S	S	S
129	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
129	R	S	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
129	R	R	S	S	NR	S	S	S	S	NR	NR
129	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
130	R	R	S	S	S	S	S	S	S	NR	NR
130	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
131	R	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
131	R	R	R	S	S	S	R	S	S	NR	NR
131	R	R	R	S	R	S	R	S	S	NR	NR
131	R	R	R	S	R	R	R	R	R	NR	NR
131	R	R	R	S	R	R	R	R	R	NR	NR
132	R	R	S	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
132	R	R	S	R	R	S	S	S	S	NR	NR

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
133	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	R
133	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
133	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	NR	S
133	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
133	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
133	R	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
133	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
134	R	R	R	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
134	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
134	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
134	R	R	R	S	S	S	R	S	S	NR	NR
135	R	R	S	S	S	S	S	S	S	NR	NR
135	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
135	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
135	S	S	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
136	R	R	S	S	NR	S	S	S	S	NR	NR
136	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
136	S	R	R	S	R	R	R	R	R	NR	NR
136	S	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
136	S	R	R	S	R	S	S	S	S	NR	NR
136	S	R	R	S	R	S	S	S	S	NR	NR
136	S	R	R	R	R	S	R	S	S	NR	NR
136	S	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
136	S	R	S	S	R	S	R	S	S	NR	NR
136	R	R	R	S	R	S	R	S	S	NR	NR

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
137	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
137	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
138	R	R	S	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
139	R	R	S	S	NR	S	S	S	S	NR	NR
140	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
141	R	R	R	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
142	R	R	S	S	NR	S	R	NR	NR	R	R
142	S	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
143	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
144	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
144	S	R	S	S	S	S	S	S	S	NR	NR
145	R	R	R	R	NR	R	S	NR	NR	S	S
145	R	R	R	CTD	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
145	R	R	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
145	R	R	R	NR	NR	R	R	NR	NR	S	S
145	R	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
145	R	R	R	R	NR	R	R	R	R	NR	NR
145	R	R	R	R	S	R	S	S	R	NR	NR
145	R	R	S	R	S	R	S	S	R	NR	NR
146	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
146	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
146	R	R	R	S	R	R	S	S	S	NR	NR
146	R	R	S	S	NR	S	S	S	S	NR	NR
146	R	R	S	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
147	R	R	R	R	NR	S	S	S	S	S	S

Nº	R	I	E	S	Z	A	O	Capreo	Kana	Ciclo	Clofa
148	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
148	R	R	S	S	NR	S	S	S	S	NR	NR
149	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
149	R	R	S	S	R	S	S	S	S	NR	NR
150	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
151	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
152	R	R	S	S	R	S	S	S	S	NR	NR
153	R	R	R	S	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR
153	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
154	R	R	S	S	NR	S	S	NR	NR	S	S
155	R	R	S	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
155	R	R	S	R	NR	S	S	NR	NR	S	S
155	R	S	S	R	NR	S	R	NR	NR	S	S
155	R	R	S	R	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
155	R	R	R	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR
155	R	R	S	R	S	R	R	S	R	NR	NR
155	R	R	S	S	R	S	S	S	S	NR	NR
156	R	R	S	S	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR

N- Número de pacientes, R-rifampicina, I-isoniazida, E-etambutol, S-estreptomicina, Z-pirazinamida, A-amicacina, O-ofloxacina ou levofloxacina, Capreo-Capreomicina, K-kanamicina, T-terizidona, Clofa-clofazimina, R-resistente, S-sensível. NR-Não realizado, CTD-contaminada.