



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA FACULDADE
DE
MEDICINA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

SAMUEL AZEVEDO CHAVES

Fatores de risco associados à Tuberculose Multirresistente

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE PNEUMOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

SARA ELISABETE MARTA DE OLIVEIRA DA SILVA FREITAS

TIAGO MANUEL POMBO ALFARO

MAIO/2020

Índice

Resumo	1
Abstract	2
Introdução	3
Material e métodos	4
Desenvolvimento	5
Epidemiologia da Tuberculose	5
Transmissão e Patogenia da Tuberculose	7
Tratamento da Tuberculose	12
Mecanismos de resistência	17
Tuberculose Multirresistente (MDR-TB)	20
Epidemiologia da MDR-TB	21
Fatores de risco MDR-TB	23
Clínica MDR-TB	26
Métodos diagnóstico	27
Tratamento MDR-TB.....	28
Discussão e Conclusão	31
Agradecimentos	33
Referências bibliográficas	34

Resumo

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa causada por bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis* que pode afetar virtualmente qualquer órgão ou sistema, mas apresenta clara prevalência pulmonar. Trata-se de uma patologia de transmissão interpessoal, através da inalação de gotas aerossolizadas pela tosse, espirro ou fala. Uma vez inalada, a infecção permanece latente por décadas em 90 a 95% dos adultos saudáveis. No entanto, existem muitos fatores que contribuem para que as bactérias latentes da tuberculose se tornem ativas, nomeadamente: síndrome de imunodeficiência adquirida associada ao HIV, idade avançada, diabetes mellitus, contato próximo com um caso ativo de TB e outras patologias que cursam com imunossupressão.

Embora a tuberculose seja uma doença antiga, com muitos esforços para tratar e controlar, continua sendo a principal causa de morbidade para milhões de pessoas a cada ano.

Com base no tratamento recomendado pela Organização Mundial da Saúde, vários países utilizam um esquema terapêutico de quatro medicamentos de primeira linha anti-TB (rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol). Quando o *M. tuberculosis* se torna resistente a um antibacilar denomina-se de tuberculose resistente (R-TB); se apresentar resistência a pelo menos isoniazida e rifampicina, a condição é conhecida como tuberculose multirresistente (MDR-TB).

A resistência aos antibacilares constitui até aos dias que correm um desafio tanto para os médicos como para os Programas de Luta contra a Tuberculose. Vários estudos prévios demonstraram que o *M. tuberculosis* desenvolve mecanismos de resistência a fármacos usando a sua estrutura celular e o seu sistema metabólico, como por exemplo o ácido micólico, parte constituinte da parede celular que restringe a entrada das moléculas dos fármacos na célula.

Com este trabalho pretende-se efetuar uma revisão da literatura com vista à caracterização dos fatores de risco associados a tuberculose multirresistente e, por conseguinte, à identificação de possíveis intervenções destinadas a controlá-la ou preveni-la, de acordo com a melhor evidência.

Palavras-chave

Tuberculose; tuberculose multirresistente; fatores de risco; resistência

Abstract

Tuberculosis (TB) is an infectious disease usually caused by *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria. It can affect virtually any organ or system but has a clear pulmonary prevalence. The bacteria that cause tuberculosis spread from one person to another through the inhalation of aerosolized drops by coughing, sneezing or speaking. Once inhaled, an infection may remain latent for decades in 90 to 95% of adults. However, there are many factors that contribute to the emergence of tuberculosis disease, such as: Acquired Immunodeficiency associated to HIV infection, advanced age, diabetes mellitus, close contact with an active case of TB and other pathologies that are associated with immunosuppression.

Although tuberculosis is an old disease and a lot of effort has been put up to treat and control it, it still remains a leading cause of morbidity and mortality for millions of people each year.

Based on the treatment recommended by the World Health Organization, several countries use a regimen of four first-line anti-TB drugs (rifampicin, isoniazid, pyrazinamide and ethambutol). When *M. tuberculosis* becomes resistant to an antibacillary agent, it is called resistant tuberculosis (R-TB), if it is resistant to at least isoniazid and rifampicin, the condition is known as multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB).

Resistant Tuberculosis is still a challenge for physicians and Tuberculosis Control Programs. Several previous studies have shown that *M. tuberculosis* develops drug resistance mechanisms using its cellular structure and metabolic system, such as mycolic acid, a constituent part of the cell wall that restricts the entry of drug molecules into the cell.

This work intends to review the literature aiming to characterize the risk factors associated with multidrug-resistant tuberculosis and, therefore, identify possible interventions intended to control or prevent it, according to the best evidence.

Key-words

Tuberculosis; multidrug-resistant tuberculosis; risk factors; resistant

Introdução

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa causada por bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis* que comumente afeta os pulmões. O agente microbiano em questão foi identificado pela primeira vez por Robert Koch em 1882; contudo, foi apenas no final da década de 1940 e início da década de 1950 que os primeiros antibacilares eficazes foram descobertos e testados em ensaios clínicos. Embora a prevalência e a mortalidade tenham vindo a diminuir, continua a ser um dos maiores problemas de saúde pública a nível mundial, e sobretudo em países em desenvolvimento. Nos últimos anos, essa ameaça foi intensificada pelo surgimento e propagação da Tuberculose Multirresistente (MDR-TB) e da Tuberculose Extensivamente Resistente (XDR).

A tuberculose multirresistente (MDR-TB) é definida pela resistência do *M. tuberculosis* a pelo menos isoniazida e rifampicina, dois dos fármacos de primeira linha e os mais relevantes no tratamento da TB. A resistência aos antibacilares ameaça prejudicar os esforços globais de controlo da Tuberculose, daí a relevância dos vários estudos e investimentos financeiros nessa área.

Dado ser um tema da atualidade com um forte impacto social e nos recursos de saúde, esta revisão pretende fornecer uma visão abrangente dos dados epidemiológicos atuais, com destaque para o panorama português, patogenia e mecanismos de resistência aos antibacilares, caracterizar os principais fatores de risco associados, a clínica, o diagnóstico e o tratamento atual da MDR-TB, com vista a identificar medidas que melhorem a longo prazo o prognóstico e a qualidade de vida dos doentes.

Material e métodos

Este trabalho teve por base uma pesquisa bibliográfica utilizando a base de dados *PubMed* e *DynaMed*, recorrendo aos seguintes termos: *multidrug-resistant tuberculosis*, *drug-resistant tuberculosis*, *risk factors*.

Na pesquisa foram selecionados inicialmente apenas artigos publicados nos últimos 10 anos e escritos em inglês, português, francês ou espanhol. Foram incluídos alguns artigos anteriores a 2009, cujos trabalhos foram essenciais para a compreensão de outros artigos referidos. Além disto, foi feita uma pesquisa no website da Organização Mundial de Saúde (WHO) e no website do *US Centers for Disease Control and Prevention* para consulta de relatórios sobre a MDR-TB.

Foram encontrados 50 artigos, dos quais posteriormente foram selecionados 15, de acordo com o título e *abstract*.

De salientar que referências bibliográficas existentes nos artigos encontrados na pesquisa abriram ainda mais o leque de artigos usados para a realização desta revisão científica.

Os tipos de estudo presentes nas referências bibliográficas englobam sobretudo artigos de revisão e meta-análises.

Desenvolvimento

Epidemiologia da Tuberculose

A tuberculose é uma das 10 principais causas de morte a nível mundial, e a principal causa de morte causada por um único agente infeccioso, encontrando-se acima da infeção por HIV/AIDS.^[1]

Em 2018, a prevalência estimada de tuberculose a nível global foi de 10 milhões de casos, um número que tem vindo a manter-se estável nos últimos anos. A incidência de casos por cada 100 000 habitantes varia bastante entre os diferentes países, desde 5 a 500 novos casos por 100 000 habitantes, com uma média global de 130 casos por 100 000 habitantes.^[2]

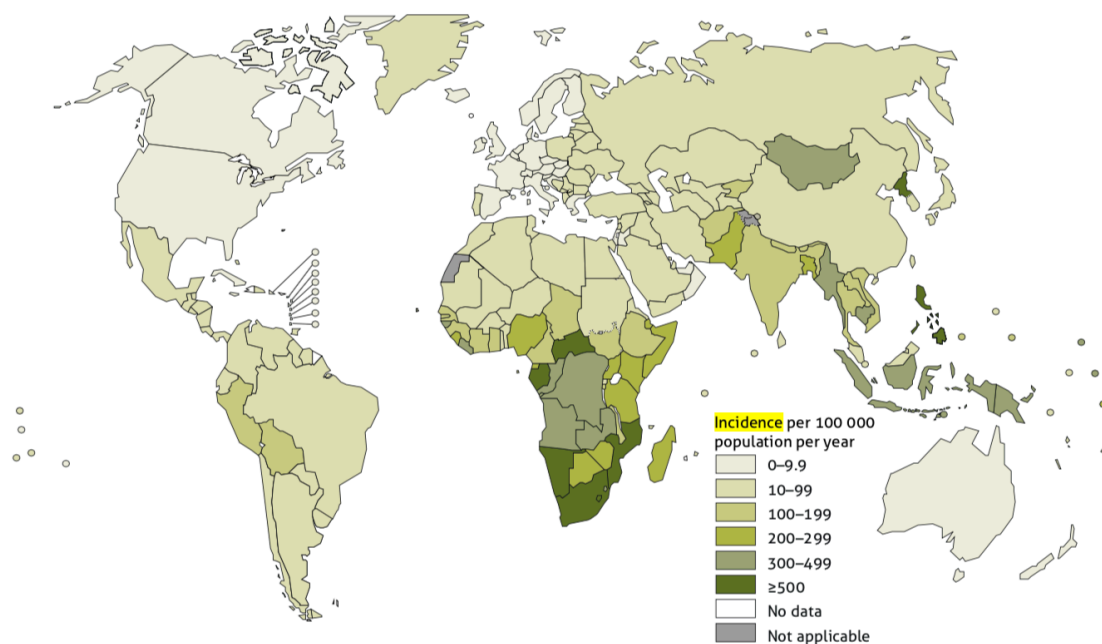


Figura 1-Taxa de incidência de tuberculose em 2018 (retirado de *WHO Global Tuberculosis Report 2019*^[2])

A tuberculose afeta ambos os sexos e todas as faixas etárias, mas os maiores registos descrevem percentagens mais significativas em homens com idade superior a 15 anos, que contabilizam um total de 57% de todos os casos registados de TB em 2018. O ratio Homem:Mulher é de 2:1.^[2]

A maior parte dos casos em 2018 ocorreram na Ásia (44%) e em África (24%), com menores percentagens na região leste do Mediterrâneo, América e Europa (8%, 3% e 3%, respetivamente). Os 5 países com maior incidência de tuberculose em 2018 foram a Índia (27%), China (9%), Indonésia (8%), Filipinas (6%) e Paquistão (6%).^[2]

Em 2018, houve cerca de 1,2 milhões de mortes em doentes com tuberculose HIV-negativos (o que representa uma redução de 27% em relação ao ano 2000), e cerca de 251 000 mortes por tuberculose associada à infeção pelo HIV (60% de redução comparando com o ano 2000).^[2]

Em Portugal, a incidência estimada de tuberculose em 2018 foi de 2400 novos casos (cerca de 24 casos por cada 100 000 habitantes). A prevalência de TB associada ao HIV foi de 8,7% (210 casos diagnosticados). A mortalidade de tuberculose associada a seropositividade para HIV em 2018 foi de 33 casos, e para seronegativos 190 casos.^[2]

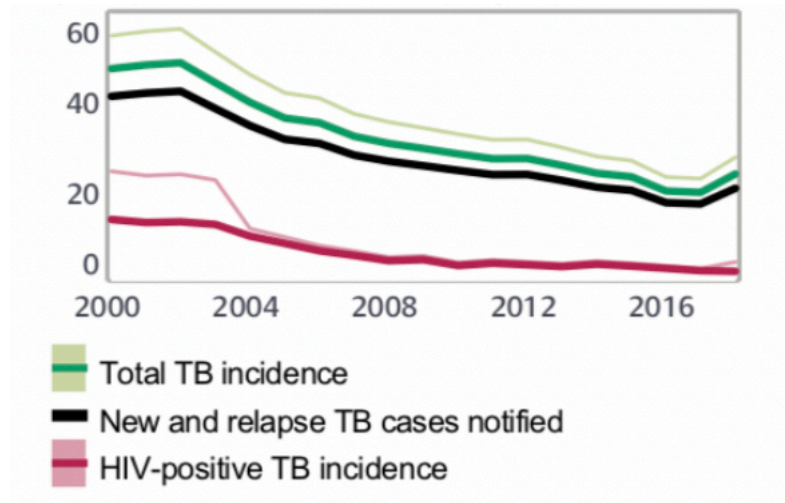


Figura 2-Perfil da tuberculose em Portugal. Taxa por 100.000 habitantes por ano (adaptado de *WHO Global Tuberculosis Report 2019*)

Apesar disso, entre 2000 e 2016 houve em Portugal uma diminuição clara do número de mortes por TB/HIV-negativo, de cerca de 4 casos para 2 casos por 100 000 habitantes.^[2]

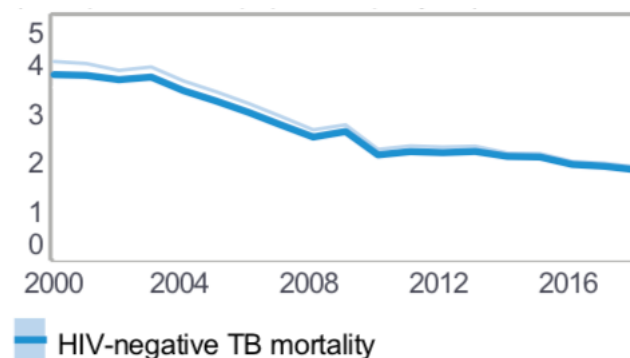


Figura 3-Taxa de mortalidade em doentes com tuberculose HIV-negativos. Taxa por 100.000 habitantes por ano (adaptado de *WHO Global Tuberculosis Report 2019*)

Nos últimos 5 anos verificou-se uma diminuição da taxa de notificação da tuberculose a um ritmo de cerca 5,4% ao ano. Em 2018, a taxa de notificação foi de 16,6 casos por 100 000 habitantes. A maior parte dos casos de tuberculose em Portugal ocorre em população nativa,

ao contrário do que acontece nos restantes países da Europa Ocidental. Continua-se a assistir a um envelhecimento da população doente, com idade média de 50,2 anos.^[3]

Em 87,9% dos doentes com TB foi feito rastreio de infeção pelo HIV, onde se pode verificar que 8,8% dos doentes com TB eram também HIV-positivos.^[4]

A tuberculose tem vindo a diminuir em Portugal, tendo ultrapassado o limite definido como de baixa incidência em 2011.^[5]

Transmissão e Patogenia da Tuberculose

A tuberculose é uma patologia causada por bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis*: *M. tuberculosis* (causa maioritária de TB em seres humanos), *M. bovis* (antigamente era uma causa importante de doença por transmissão através do leite não pasteurizado, hoje em dia responsável por um pequeno número de casos), *M. caprae* (relacionado com o *M. bovis*), *M. africanum* (isolado em algumas regiões de África), *M. microti* (raramente encontrado e pouco virulento), *M. pinnipedii* (infecta sobretudo seres marinhos no hemisfério Sul, encontrado recentemente em humanos), *M. canettii* (forma rara isolada no Este Africano) e *M. mungii*.^[6]

O *M. tuberculosis* é de transmissão direta, interpessoal, principalmente através de gotículas aerossolizadas pela tosse, espirro ou fala.^[5] Dependendo do ambiente, essas gotículas (1-5 microns) podem permanecer suspensas no ar por várias horas.

A transmissão ocorre quando uma partícula contendo o microrganismo é inalada, atravessando as vias aéreas superiores e inferiores para alcançar os alvéolos pulmonares.^[6]

Vários fatores podem determinar a probabilidade de transmissão do *M. tuberculosis*, são eles: a suscetibilidade, ou seja, o estado imunológico do indivíduo exposto; a infecciosidade do doente com tuberculose; o ambiente; e, por último, a exposição, nomeadamente a proximidade, a frequência e duração de contacto a que o indivíduo é exposto.^[6]

O grau de infecciosidade do doente com tuberculose varia consoante determinadas características: a clínica (presença de tosse, especialmente nas últimas 3 semanas; doenças do trato respiratório, sobretudo as que envolvem a laringe; falha na cobertura da boca e do nariz quando se tosse e tratamentos inadequados quer seja no tipo de fármacos utilizados, quer seja na duração do tratamento); procedimentos (quando são submetidos a indução de tosse ou procedimentos com aerossóis, como por exemplo na broncoscopia, indução de expectoração ou na administração de medicamentos em aerossol); radiografia do tórax e exames laboratoriais (presença de cavitações na radiografia do tórax, cultura positiva para *M. tuberculosis*, positividade no exame direto da expectoração traduzido pela presença de bacilos ácido-álcool resistentes).^[6]

Há vários fatores ambientais que aumentam a probabilidade do *M. tuberculosis* ser transmitido, como por exemplo: concentração de partículas infecciosas; exposição em espaços pequenos e fechados; ventilação inadequada que resulta numa insuficiente dispersão ou remoção de gotículas aerossolizadas; recirculação de ar que contenha partículas infecciosas; manuseamento inapropriado de amostras que contenham partículas infecciosas; pressão de ar positiva em quartos com doentes tuberculosos que provoca circulação do microrganismo para outras áreas. ^[6]

A transmissão também é influenciada pela proximidade e duração da exposição ao microrganismo, sendo que quanto maior for a duração, a frequência e a proximidade física com a pessoa infecciosa maior será o risco de transmissão. ^[6]

Resumidamente, a exposição é influenciada por fatores exógenos (probabilidade de contacto, intimidade e duração do contacto, número de bactérias expelidas para o ar, concentração de bactérias no ar tendo em conta o volume do espaço e a sua ventilação); e por fatores endógenos (imunidade natural, imunidade celular e humoral), em que todas em conjunto contribuem sinergicamente para o aparecimento da doença.

A inalação de partículas contendo o bacilo pode levar a quatro cenários diferentes:

- 1- Destruição imediata do Bacilo de Koch, rara
- 2- Tuberculose Primária
- 3- Tuberculose Latente
- 4- Tuberculose Secundária

Mais à frente serão discutidas estas diferentes possibilidades.

Como já referido acima, as partículas contendo *M. tuberculosis* habitualmente entram pelo trato respiratório superior até atingir os alvéolos, onde se acredita que o seu primeiro contacto seja com macrófagos alveolares, embora alguns autores defendam que seja possível que a bactéria seja primeiro fagocitada por pneumócitos tipo II no epitélio alveolar, visto que o *M. tuberculosis* pode infetar e crescer nesses pneumócitos *ex vivo*. ^[8,9] A maioria dos estudos sobre recetores fagocitários centraram-se na relação *M.tuberculosis*-Macrófago; contudo, outras células são recrutadas pelo pulmão infetado, incluindo neutrófilos, linfócitos, macrófagos derivados de monócitos e células dendríticas, que também fagocitam as bactérias e desempenham um papel importante no resultado da infeção. De facto, em ratinhos, a população dominante infetada são as células dendríticas mieloides. ^[9,10] Para além disso, as células dendríticas desempenham um papel importante em estádios iniciais da infeção, dado que são melhores apresentadoras de antigénios do que os macrófagos, e presumivelmente ativam as células T com antigénios específicos do *M. tuberculosis*. Estas células também são

responsáveis pela disseminação do *M. tuberculosis*, visto que migram depois para os gânglios linfáticos. ^{[8][10]}

Numa fase inicial, o *M. tuberculosis* e outros agentes patogénicos intracelulares residem num fagossoma do macrófago hospedeiro. Se ocorrer a maturação do fagossoma, isto é a junção do fagossoma com o lisossoma, estas bactérias encontrarão um ambiente hostil que inclui um pH ácido, espécies reativas de oxigénio, enzimas lisossómicas e peptídeos tóxicos. Dado que a maior parte das bactérias morrem no interior dos fagolisossomas, os agentes patogénicos intracelulares foram evoluindo de modo a evitar esse microambiente hostil. ^[8,10]

A entrada e a circulação do *M. tuberculosis* no macrófago já foram abordadas em vários estudos; em contrapartida, encontram-se menos informações sobre como a micobactéria sobrevive e cresce em estádios mais avançados de infeção no pulmão. Os macrófagos infetados no pulmão, através da produção de quimiocinas, recrutam monócitos, linfócitos e neutrófilos inativados, nenhum dos quais consegue neutralizar a bactéria eficientemente. ^[8] As células dendríticas desempenham o seu papel, já referido acima, que é relevante para a evolução da doença. O conjunto destes eventos levam à formação de lesões granulomatosas compostas por macrófagos, polimorfonucleares, células de Langhans e linfócitos. Este processo é uma maneira eficaz de evitar a disseminação da bactéria. Com o desenvolvimento da imunidade celular, os macrófagos que contêm bacilos no seu interior são destruídos, resultando na formação do centro caseoso do granuloma, envolvido por uma zona celular de fibroblastos, linfócitos e monócitos derivados da corrente sanguínea. ^[8]

Embora, muitos autores defendam que os bacilos de *M. tuberculosis* sejam incapazes de se multiplicar dentro deste tecido caseoso devido ao pH ácido, à baixa concentração de oxigénio e à presença de ácidos gordos tóxicos, muitos organismos permanecem quiescentes mas vivos durante várias décadas. O estado imunológico do hospedeiro vai determinar se a infeção é detida neste ponto ou progride para os estádios seguintes. Se ficar neste estágio, designa-se por tuberculose latente, ou seja, a pessoa é portadora do bacilo, contudo não desenvolveu a doença e nem a pode transmitir. ^[6,8]

Portanto, o macrófago representa o papel chave na resposta ao *M.tuberculosis*, uma vez que é a primeira célula efetora na defesa do organismo, assim como representa o seu reservatório onde se irá multiplicar. As células fagocitárias expressam vários recetores que se ligam à micobactéria, incluindo: recetores de lectina tipo C (CLR), recetores *scavenger* e recetores do complemento. A capacidade que o microrganismo tem de infetar os macrófagos parece ser determinante na propagação da bactéria e disseminação. A complexidade dos mecanismos de entrada dificultou a demonstração da contribuição individual dos diferentes recetores em células primárias e *in vivo*. ^[10]

Os recetores lectina tipo C tais como recetor da manose do macrófago (MMR), DC-specific intracelular adhesion molecule 3-grabbing nonintegrin (DC-SIGN) e a Dectina-1 estão implicados na ligação e absorção das micobactérias. O recetor da manose do macrófago foi o primeiro recetor lectina tipo C a ser associado ao reconhecimento do *M. tuberculosis* e juntamente com o DC-SIGN implicados na fagocitose do microrganismo. Para além disso, desempenham papel na maturação do fagossoma e na sinalização de citocinas. A parede celular das micobactérias é rica em lipoglicanos, como o manosil liparabinomanano (ManLAM), que permite que seja reconhecida pelo MMR e DC-SIGN. O liparabinomanano (LAM) é manosilado nas bactérias patogénicas, enquanto que nas paredes celulares de micobactérias ambientais é limitado por arabinose (AraLAM) ou fosfato de inositol. Por esse motivo acredita-se que o ManLAM seja um potencial fator de virulência, o que tem gerado várias investigações.^[10]

Os recetores *scavengers* também participam na ligação e absorção das micobactérias, juntamente com os CLR. As bactérias podem ainda ser captadas por opsonização, e nesse caso são mediadas pelos recetores para a proteína Surfactante A, recetor Fc (IgG) e recetores do complemento como o CR1.^[10]

A proteína Surfactante A é uma glicoproteína encontrada nas superfícies alveolares, que facilita a ligação e absorção das micobactérias através da regulação da atividade do recetor da manose. Em contrapartida, a proteína Surfactante D, localizada de igual modo nos alvéolos, inibe a fagocitose do *M. tuberculosis* bloqueando resíduos de Manosil-oligosacarídeos na superfície celular bacteriana, o que dificulta a interação das micobactérias com o recetor da manose na superfície celular do macrófago.^[8]

Sendo assim, a captação por recetores distintos determina o destino intracelular das bactérias e acredita-se que a absorção por via MMR permite que as bactérias resistam ao processo de maturação do fagossoma, enquanto que a absorção mediada pelos recetores DC-SIGN ou recetor Fc sejam encaminhadas para os lisossomas. Contudo, mais provavelmente a absorção ocorre através da cooperação dos diferentes recetores por estes serem co-expressos nas mesmas células. Portanto, o *Mycobacterium tuberculosis* tira partido das diferentes formas de entrada para invadir e explorar as células fagocitárias do hospedeiro.

[10]

Tabela 1 - Recetores implicados na entrada do *M. tuberculosis* nas células fagocitárias. (adaptado de: Philips JA, Ernst JD. *Tuberculosis Pathogenesis and Immunity*)

Receptor	<i>M. tuberculosis</i> ligand(s)	Comment
Nonopsonic		
C-type lectin (transmembrane)		
Mannose receptor (CD207)	ManLAM, PIMs, arabinomannan, mannans, mannoproteins	Thought to be anti-inflammatory and to inhibit delivery of mycobacteria to the lysosome
DC-SIGN (CD209)	ManLAM, PIMs, arabinomannan, lipomannan, 19-kD antigen	Major uptake receptor in human DCs; thought to be anti-inflammatory and inhibit DC maturation. There are seven paralogs in mice (SIGNR1–5, SIGNR7, SIGNR8)
Dectin-1	Unknown	Recognizes fungal β -glucan in cooperation with TLR2. <i>M. tuberculosis</i> ligand is unknown
Integrin family		
Complement receptor 3 (CD11b/CD18)	LAM, PIMs, antigen 85C	Has a lectin domain and mediates opsonic and nonopsonic uptake of <i>M. tuberculosis</i>
SRs		
Class A (SR-A1, MARCO) Class B (CD36, SR-B1)	Unknown	SRs display broad ligand-binding ability; ligands include lipoproteins, polyanionic molecules, gram-positive and gram-negative bacteria
Opsonic		
CRs		
CR1, CR3 (CD11b/CD18)	Host iC3b	CR3 is the major complement receptor involved in complement-opsonized <i>M. tuberculosis</i> uptake; <i>M. tuberculosis</i> activates the alternative complement pathway and is opsonized by C3b and iC3b
Collectins (soluble C-type lectins)		
Surfactant protein A	ManLAM; lipomannan, a 60-kD glycoprotein; the glycoprotein Apa	Agglutinates <i>M. tuberculosis</i> and enhances macrophage internalization
Surfactant protein D	ManLAM	Agglutinizes <i>M. tuberculosis</i> and delays macrophage phagocytosis
Mannose-binding lectin	ManLAM, PIMs	Human studies suggest that low levels confer protection from tuberculosis
Fc receptor		
Fc γ R	Host IgG	Uptake through Fc receptors may direct <i>M. tuberculosis</i> to the lysosome

Abreviaturas: DC - células dendríticas; IgG - imunoglobulina G; LAM - lipoarabinomanano; ManLAM - manosil lipoarabinomanano; PIM - fosfatidilinositol manano; SR - recetor *scavenger*; TLR - recetores *Toll-Like*

Os recetores *Toll-like* (TLR), TLR2 e TLR4, são responsáveis pelo reconhecimento da bactéria e por desencadear sinais pró-inflamatórios.^[10,11] Estes tipos de recetores reconhecem os padrões moleculares associados aos agentes patogénicos (PAMPs) que, no caso do *M. tuberculosis*, reconhecem o componente principal da parede celular LAM e trehalose 6,6'-dimicolato (TDM). Os agentes patogénicos das micobactérias evitam ligar-se a esta família de recetores (TLR), prevenindo desse modo uma forte resposta pró-inflamatória em estádios iniciais da infeção. Estudos revelam que os TLR2 e TLR4 estão implicados na ativação dos macrófagos através de cascatas MAP cinases, Janus cinase/sinal transdutor e ativador da transcrição (JAK/STAT) e de NF- κ B, originando a produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, TNF-alfa e interferões, assim como de quimiocinas.^[11]

A infeção por *M. tuberculosis*, apresenta um leque variado de estratégias que facilitam a patogénese e evitam a destruição bacilar, como por exemplo evitando a maturação do fagossoma, interferindo na viabilidade do fagócito como forma de preservar o ambiente de

replicação e subsequentemente facilitar a libertação e disseminação de novos bacilos, suprimindo a resposta de sinais ativadores (mediada pelo Cálcio, Calmodulina, Catelicidina); alterando as cascatas de sinalização, secretando fatores de virulência (ESAT-6 e CFP-10) e induzindo a morte de células T. ^[11-13]O *M. tuberculosis* demonstrou ser muito resistente a espécies reativas de oxigénio, como também expressa genes que antagonizam o efeito bactericida e bacteriostático das espécies reativas nitrogenadas.^{[11][14]}

Os macrófagos infetados pelo *M. tuberculosis* geralmente sofrem apoptose, ou seja, uma morte programada e controlada, através da ativação de respostas pró-inflamatórias. Contudo, em certos casos as micobactérias modulam a atividade da MAP cinase, levando a uma diminuição dessa resposta inflamatória, resultando na inibição da apoptose dos macrófagos atingidos. Por outro lado, estes macrófagos podem sofrer necrose que pode ser também outro mecanismo de virulência, dado que a rutura da membrana iria facilitar a libertação e disseminação da bactéria para os tecidos circundantes. Acredita-se que a sinalização através de PGE2 e LXA4 esteja na origem dos mecanismos que determinam a apoptose ou necrose do macrófago. ^[11] O PGE2 é produzido sobretudo em bactérias não virulentas o que resulta em apoptose, enquanto que o LXA4 é produzido sobretudo em bactéria virulentas e suprimem a síntese de PGE2 levando a necrose do macrófago. Em suma, uma das estratégias mais importantes que o *M. tuberculosis* dispõe para escapar ao sistema imunitário do organismo é a sua capacidade de regular o processo de morte do macrófago hospedeiro.^[11]

Se uma pessoa infetada pelo *M. tuberculosis* não consegue debelar a infeção inicial no pulmão, ou se num doente com tuberculose latente, o sistema imunitário estiver imunodeprimido seja por medicamentos imunossupressores, infeção por HIV, malnutrição ou envelhecimento, o centro do granuloma pode liquefazer e a bactéria desse modo multiplicar-se e disseminar-se, resultando na ativação da tuberculose,^[8] e desenvolvendo as manifestações clínicas próprias da patologia.^[6]

A tuberculose pode afetar virtualmente qualquer órgão ou sistema, visto que os bacilos podem disseminar-se por via linfática ou hematogénica (os mais frequentemente atingidos são os gânglios linfáticos regionais, ápices pulmonares, rins, cérebro, osso, entre outros) mas apresenta clara prevalência pulmonar (90%). Este processo de disseminação prepara o sistema imunológico para uma resposta sistémica. ^[6]

Tratamento da Tuberculose

Feito o diagnóstico, o tratamento da tuberculose responde aos esquemas terapêuticos standardizados que dependem da categoria da doença. A tuberculose é assim classificada segundo a sua localização, pulmonar ou extrapulmonar, bacteriologia, antecedentes de

tratamento antibacilar e o status serológico para o HIV. Do ponto de vista de saúde pública, o tratamento adequado dos doentes constitui a medida mais eficaz na luta contra a tuberculose.

[15]

O tratamento tem como objetivos primários a destruição rápida dos bacilos, a prevenção de resistências e a esterilização dos tecidos, tendo por finalidade poupar os tecidos do hospedeiro, diminuir a infecciosidade e probabilidade de ocorrência de mutações resistentes, evitar a falência do tratamento e as recidivas, curando o doente e devolvendo-lhe qualidade de vida. [16]

Uma lesão tuberculosa comporta 3 populações bacilares distintas: uma população de crescimento rápido, presente nas cavidades (*caseum*), onde a multiplicação acelerada é responsável pelo desenvolvimento de colónias resistentes a cada um dos antibióticos, o que impede a monoterapia e justifica numa fase inicial um tratamento intensivo baseado na administração de vários antibacilares simultaneamente; outra população de crescimento mais lento, presente nas áreas de necrose e dentro dos macrófagos, menos acessível aos antibióticos e podendo estar na origem de recidivas; e outra população em fase quiescente/replicação, sendo que a erradicação desta população necessita de uma terapêutica prolongada de vários meses, para evitar que entre em fase de replicação. [15]

O esquema terapêutico de primeira linha da tuberculose sensível aos medicamentos engloba 4 antibacilares: Isoniazida (H) e Rifampicina (R), ditos antibacilares major pelas excelentes propriedades bactericidas e esterilizantes, com uma boa difusão que lhes permite atingir os bacilos intra e extracelulares. A administração concomitante destes dois antibacilares permite uma redução rápida do número de bacilos de Koch (BK) e, portanto, uma negatividade rápida do exame de expectoração; Pirazinamida (Z), eficaz sobre os bacilos intracelulares; Etambutol (E) com propriedades bacteriostáticas. O tratamento tem uma duração total de 6 meses (2 meses HRZE + 4 meses HR). [15,16] Para além destes 4 medicamentos essenciais, a Estreptomicina (S) pode, em certos casos, substituir o Etambutol.

Como forma de maximizar a adesão do doente ao tratamento, a estratégia terapêutica passa pela toma dos antibacilares sob observação direta (TOD). [17]

Tabela 2 - Principais fármacos utilizados no tratamento da tuberculose (atividade principal, farmacocinética, doses e reações adversas). (adaptado de *World Health Organization. Guidelines for treatment of drug-susceptible tuberculosis and patient care: 2017 update*)

	Isoniazida (H)	Rifampicina (R)	Pirazinamida (Z)	Etambutol (E)	Strept. (S)
Atividade principal	Bactericida	Esterilizante	Esterilização adicional à R	Prevenção de resistência adquirida	Bactericida
Farmacocinética	Via oral Pico 1-2h após administração Metabolização e eliminação hepática	Via oral Metabolização e eliminação hepática	Via oral Metabolização hepática Eliminação hepática e renal	Via oral Pico 2-3h após admin. Excreção renal	Via I.M ou I.V
Dose (adultos) Toma diária mg/kg	5 mg/kg/dia	10 mg/kg/dia	25 mg/kg/dia	15 mg/kg/dia	15 mg/kg/dia
Principais reações adversas	Hepatotoxicidade Neuropatia periférica Hipersensibilidade	Hepatotoxicidade Reações Imunológicas Compromisso renal	Hepatotoxicidade Hiperuricemia	Nevrite retrobulbar	Ototoxicidade Toxicidade vestibular Nefrotoxicidade

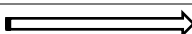
Como referido acima, o esquema terapêutico varia de acordo com o facto do doente ter sido tratado anteriormente ou não, mas em todos os casos compreende duas fases: uma fase inicial ou intensiva que dura 2 meses e que tem como propósito destruir o *M. tuberculosis*, prevenir o aparecimento de resistências e minorar a possibilidade de contágio; e uma fase de manutenção, de duração variável conforme a situação clínica. Esta fase serve para esterilizar as lesões e prevenir desse modo as recidivas. Na prática existem 3 situações clínicas que necessitam de esquemas terapêuticos dirigidos: novos casos, casos de retratamento ou falência terapêutica, e tuberculose resistente.^[15,16,18]

Tabela 3 - Esquema de primeira linha no tratamento da tuberculose pulmonar. (adaptado de *Revue de Pneumologie Clinique. Elsevier Masson SAS; 2015.*)

Esquema estandardizado para novos casos de tuberculose pulmonar	
Sensibilidade presumível ou estabelecida aos antibacilares	
Fase intensiva	Fase de manutenção
2 meses de HRZE	4 meses de HR

Nos doentes com tuberculose já anteriormente submetidos a tratamento antibacilar, o esquema terapêutico anterior deve estar bem documentado, a fim de avaliar o risco de resistências. Está recomendado efectuar culturas e antibiograma no início do tratamento com intuito de detectar precocemente eventuais resistências, nomeadamente multirresistência, sendo esta 5 vezes mais frequente nos casos de retratamento do que nos novos casos. O esquema terapêutico antibacilar deve ser estritamente adaptado à sensibilidade dos bacilos. [15,16]

Tabela 4 - Esquema de retratamento ou falência terapêutica. (adaptado de *Revue de Pneumologie Clinique. Elsevier Masson SAS; 2015*)

Retratamento ou falência terapêutica		
1/2HRZES*		5HRE

E- Prevenção de resistências à H e R

S- Esquemas de retratamento

*S (inicial) e E (manutenção) podem ser suspensos se o teste de sensibilidade a antibióticos mostrar sensibilidade aos outros antibacilares.

Nos doentes com suspeita ou resistência confirmada, o regime terapêutico deve ser dirigido em centro de referência.

A Organização Mundial de Saúde recomenda combinações fixas de 2 ou mais antituberculosos que têm por objetivo diminuir o número de erros na prescrição e simplificar o tratamento diminuindo o número de comprimidos por dia, o que privilegia a adesão do doente ao tratamento e evita o risco de tomas irregulares ou de vários antibacilares. Existem no mercado algumas combinações fixas como o Rifater®, que associa no mesmo comprimido isoniazida 50mg, rifampicina 120mg e pirazinamida 300mg, a associar com o etambutol. Uma outra possibilidade é o Rifinah®, que associa isoniazida 150mg e rifampicina 300mg. [16]

Para todas as regras existem exceções, neste caso certas localizações extrapulmonares que requerem esquemas terapêuticos distintos. Na localização meníngea, é recomendado um tratamento mais prolongado de cerca de 12 meses (2HRZS/10HR) devido à variabilidade de penetração dos medicamentos no líquido cefalorraquidiano e ao risco de incapacidade e morte. A corticoterapia adjuvante está fortemente recomendada na tuberculose meníngea e na pericardite.^{[19][20][21]}

O tratamento da tuberculose ganglionar pode ter um regime de 6 meses (2HRZE/4HR) ou de 9 meses (2HRZE/7HR), contudo preconiza-se preferencialmente o esquema terapêutico clássico 2HRZE/4HR, dado que em termos de eficácia é tão boa como o esquema de 9 meses, demonstrado em estudos retrospectivos, como também aumenta a conveniência da toma e reduz os custos e os efeitos secundários.^[22]

Na tuberculose osteo-articular existem dois cenários possíveis: 2HRZE/4HR recomendado pela Organização Mundial de Saúde; 2HRZE/7HR pela ATS/CDC. O tratamento cirúrgico só está recomendado na presença de sintomas neurológicos devido a compressão.^[15,17]

O tratamento da tuberculose em doentes com outras co-morbilidades (doença hepática, doença renal, imunodeprimidos-HIV) pode sofrer alterações na duração, dosagem e frequência de administração dos antibacilares. Na doença hepática, a Pirazinamida pode estar contra-indicada, devendo ser efectuado o esquema 9HRZ.^[23,24] Na doença renal, a isoniazida e rifampicina podem ser utilizadas porque têm eliminação biliar, mas para o etambutol a posologia deve ser adaptada. Nos casos de doença renal crónica terminal, o protocolo proposto é 2HRZ/6HR.^{[15][25]}

Nos imunodeprimidos, o esquema terapêutico é o mesmo que nos imunocompetentes. Nos indivíduos infetados pelo HIV, alguns autores defendem um tratamento mais prolongado, no intuito de diminuir as taxas de recidiva. Nas co-infeções tuberculose/HIV, a prioridade é iniciar o tratamento antibacilar, desde que o doente mantenha contagens de linfócitos CD4 ainda em valores normais, como será abordado mais à frente.^[15,26]

Em casos de gravidez e aleitamento, a estreptomicina está contraindicada. O tratamento responde ao esquema terapêutico standard 2HRZE/4HR. Recomenda-se a administração de piridoxina (vitamina B6) a todas as mulheres medicadas com isoniazida que estejam grávidas ou em período de amamentação. O recém-nascido deve receber um tratamento que compreende a isoniazida e vitamina K, como forma de evitar hemorragias pós-parto.^[15,27]

Mecanismos de resistência

O aumento do número de casos de formas de tuberculose resistentes aos fármacos, levou a cabo vários estudos na busca de novos antibacilares e estudos sobre a aquisição das resistências. [28]

A definição do termo “resistência a fármaco” é bastante ambígua. Segundo a WHO, a resistência a um fármaco é definida como sendo a capacidade que determinados microrganismos têm de resistir à ação dos antibióticos. [29] O termo “farmacorresistência” no *M. tuberculosis* é usado para descrever monorresistências (resistência apenas a um antibacilar de primeira linha). [30]

No que diz respeito ao *M. tuberculosis*, a resistência ao fármaco é definida como a capacidade de >1% dos bacilos crescerem na presença da concentração crítica do fármaco. Este último conceito refere-se à concentração de antibiótico necessária para inibir o crescimento em 95% de estirpes selvagens que até aí não foram expostas ao fármaco. [29][31]

Tabela 5 - Classificação dos casos de tuberculose. (adaptado de Woods GL, Wengenack NL et al. *Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardia spp., and Other Aerobic Actinomycetes.*)

Categorias	Breakpoints	
	MIC	Concentração crítica
Suscetível	<= 4	1 (não cresce)
Intermédio	8-16	-
Resistente	>= 32	1 (cresce)

MIC- *minimal inhibitory concentration*

De acordo com a WHO/UNION, a resistência pode ser intrínseca/constitutiva, ou seja, “resistência ao fármaco em casos novos”, e adquirida, isto é, “resistência ao fármaco em doentes previamente tratados”. Vários são os fatores que podem estar implicados no aumento da incidência de formas resistentes de tuberculose. Dentro das propriedades das micobactérias, incluem-se fatores que estão relacionados com resistência constitutiva e resistência adquirida aos antibacilares. [31,32]

A resistência aos antibacilares deve-se principalmente a mutações em genes específicos; contudo, uma pequena proporção não apresenta essas mutações, o que indicia o envolvimento de outros mecanismos, tais como: baixa permeabilidade da parede celular da micobactéria, modificação enzimática e/ou nas bombas de efluxo, adaptações metabólicas ou biofilmes. [28][33]

Permeabilidade reduzida da parede celular

A micobactéria tem uma parede celular completa, constituída por uma grande quantidade de lípidos, proteínas e polissacarídeos, que lhe conferem características hidrofóbicas com permeabilidade restringida para um grande número de compostos antibacterianos. A entrada de moléculas hidrofóbicas é limitada pelas camadas de peptidoglicanos e arabinogalactanos, enquanto que o ácido micólico limita a entrada tanto das moléculas hidrofóbicas como hidrofílicas. Uma forma dos antibióticos hidrofóbicos atravessarem a bicamada hidrofóbica da célula é por difusão. Os antibióticos hidrofílicos que não conseguem difundir-se pela camada usam canais específicos como o das porinas.^{[28][33]}

Modificação e degradação enzimática dos fármacos

Uma das estratégias utilizadas pelas bactérias, em resposta às propriedades tóxicas dos antibióticos, é a produção de enzimas. Um exemplo deste mecanismo é a modificação dos fármacos através das cinases, como acetiltransferases, adeniltransferases, glicosiltransferases e ADP-ribosiltransferases. No *M. tuberculosis*, a modificação enzimática dos fármacos deve-se sobretudo à metilação do ARN ribossómico.^{[28][33]}

Bombas de efluxo como mecanismo de resistência aos antibacilares

As bombas de efluxo são proteínas transportadoras localizadas na membrana citoplasmática de todos os tipos de células e atuam como transportadores ativos. Nas bactérias, o papel dos sistemas de efluxo, é proteger a célula contra moléculas tóxicas, incluindo os antibióticos, transportando-os uma vez entrados na célula bacteriana para o ambiente extracelular. Esta estratégia permite reduzir a concentração intracelular dos antibióticos a níveis sub-inibitórios e, desta forma, promover a farmacorresistência.^{[28] [33]}

De um modo geral, a resistência genética das bactérias é mediada pela aquisição de genes exógenos através de plasmídeos, transposões, integrões e bacteriófagos. No entanto, no *M. tuberculosis* não foram reconhecidos mecanismos de aquisição de genes de resistência por esses elementos. A resistência aos antibacilares deve-se principalmente a alterações nos genes que codificam os alvos dos antibióticos. Em contrapartida, não se conhece uma alteração genética que por si só dê lugar ao fenótipo de Tuberculose multirresistente (MDR-TB) ou extensamente resistente (XDR-TB). A transmissão e aquisição de farmacorresistência pode depender da linhagem genética.^[33]

A resistência clínica aos antibacilares ocorre em grande parte como resultado da seleção de estirpes resistentes, causados pela baixa adesão ao tratamento, seguimento e prescrições inapropriados, doses subterapêuticas dos fármacos e acesso precário aos serviços de saúde e ao tratamento.^{[33][34]}

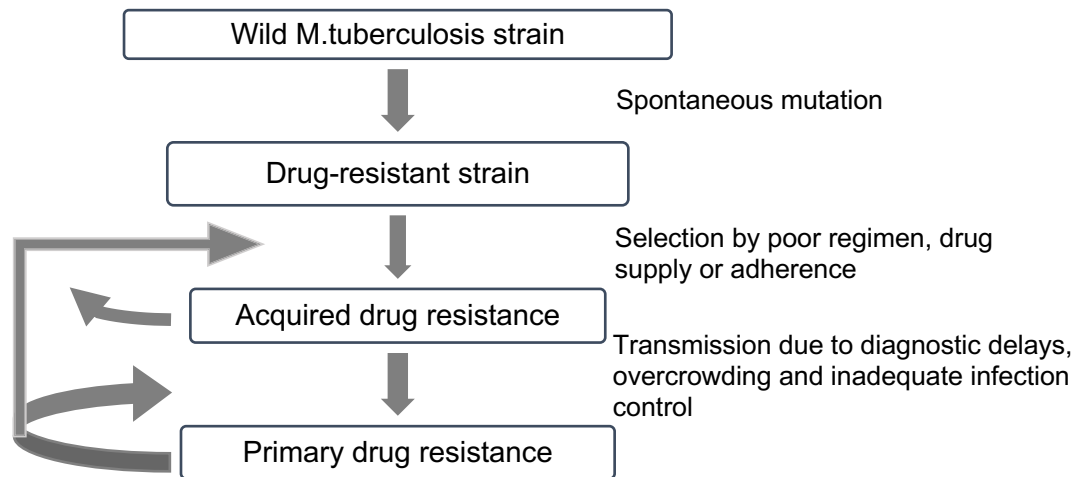


Figura 4 - Propagação das resistências (adaptado de Zhang Y, Yew WW. *Mechanisms of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: Update 2015. Vol. 19, International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*)

A Isoniazida (H) é um pró-fármaco que é ativado pela enzima catalase-peroxidase (KatG), codificada pelo gene *katG* no *M. tuberculosis*, capaz de bloquear a síntese de ácido micólico. Na década de 50, foi descrita pela primeira vez a resistência a isoniazida, devido ao seu uso em monoterapia, o que levou ao aparecimento dos primeiros regimes terapêuticos combinados que incluíam S (Estreptomicina) e PAS (ácido para-aminosalicílico). A resistência a isoniazida é a mais frequente das resistências a fármacos antibacilares. A atividade da H depende de duas enzimas chaves: KatG e uma segunda enzima enoyl-ACP reductase NADH dependente (enzima produtora de ácidos gordos), codificada pelo gene *inhA*, que está envolvida na biossíntese do ácido micólico e é inibida pela H ativada. Mutações no *katG*, mais frequentemente substituição de uma amina (Ser315Thr), provocam uma mudança na conformação do ponto de ligação da H, evitando a sua bioativação. Mutações na região codificadora do *inhA* causam uma mudança estrutural que reduz a afinidade de ligação à NADH, evitando a ligação da H ao alvo, resultando em resistência.^[35]

A Pirazinamida (Z) é um pró-fármaco que é largamente usado como antibacilar desde 1972. Para desempenhar a sua atividade antimicrobiana, a Z precisa ser convertida da sua forma inativa em ácido Pirazinóico, por ação da pirazinamidase, enzima esta que é codificada pelo gene *pncA*. O ácido pirazinóico provoca acidificação citoplasmática e depleção do potencial de membrana. Até há pouco tempo, pensava-se que a sua ação dependeria do pH ácido, contudo foi recentemente demonstrado que a sua atividade pode ser independente do pH ácido e acidificação intrabacteriana. Mutações no gene *pncA* resultam numa perda de função da pirazinamidase, representando o mecanismo molecular principal de resistência do *M. tuberculosis* à pirazinamida.^[35,36]

A Rifampicina (R) foi introduzida em 1972 como antibacilar, altamente bactericida tanto para as micobactérias “*growing*” e “*non-growing*”. O alongamento do RNA mensageiro é inibido pela Rifampicina; desde modo, a maioria das estirpes do *M. tuberculosis* resistentes à Rifampicina apresenta mutações na região estrutural do gene *rpoB* que codifica para a subunidade β da RNA polimerase, precisamente na região determinante de resistência à rifampicina, desde os codões 426 a 450 da *rpoB*. As mutações nos codões 450, 445 e 435 são as mais comumente associadas a resistência à rifampicina. [36–38]

O Etambutol (E) é um agente bacteriostático, que tem como alvo principal a arabinosiltransferase codificada pelo operon *embCAB*, que inibe a biossíntese de arabinogalactano na parede celular do *M. tuberculosis*. As mutações *missense* estão na origem das resistências ao etambutol, nomeadamente mutações no operon *embCAB*, particularmente nos codões 306, 406 e 497 do gene *embB*. Entre todas as mutações, a mais comum é a *embB* M306V. [37][39,40]

As fluoroquinolonas, são antibióticos eficazes contra o *M. tuberculosis*, tanto para os do tipo “*growing*” e “*non-growing*”. O seu mecanismo molecular envolve a inibição da atividade da topoisomerase II (DNA-girase), que inibe subsequentemente a transcrição do DNA e a replicação bacteriana do *M. tuberculosis*. As DNA-girases são tetrâmeros compostos por duas subunidades alfa e duas subunidades beta, codificados pelo *gyrA* e *gyrB*, respetivamente. A resistência aos antibacilares deve-se principalmente a mutações no gene *gyrA*. As mutações mais frequentes ocorrem nos codões 90, 91 e 94, embora mutações *missense* também têm sido reportadas nos codões 74 e 88. Mutações no gene *gyrB*, nas regiões A508S e G512R, conferem alto grau de resistência às fluoroquinolonas. A resistência cruzada entre as fluoroquinolonas é bastante comum. A expressão de bombas de efluxo em níveis elevados, como *pstB*, parece ser uma das causas possíveis de resistência às fluoroquinolonas em estádios iniciais. [37,41,42]

Tuberculose Multirresistente (MDR-TB)

Em 1947, foi introduzida antibioterapia eficaz contra o *M. tuberculosis* e desde essa época é conhecida a resistência aos antibacilares. Contudo, não foi motivo de grandes preocupações, visto que os esquemas terapêuticos instituídos, com mais de dois fármacos, possibilitavam a cura. No entanto, no início da década de 90 surge um surto de casos de co-infecção TB/HIV, nos Estados Unidos da América e Europa, associado a um aumento da incidência de casos de tuberculose resistente a fármacos de primeira linha. Em 1994, a *World Health Organization (WHO)* e a *International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD)* vêem-se obrigadas a lançar um Programa de Vigilância Global de resistências aos antibacilares. Os primeiros resultados indicaram que a resistência era um problema global,

que afetara toda a amostra de 35 países, distribuídos pelos 5 continentes. Nessa altura, sentiu-se a necessidade de definir os vários tipos de tuberculose no que concerne as resistências. No relatório da *WHO/IUATLD*, a multirresistência é definida como a resistência a Isoniazida e Rifampicina, com ou sem resistência a agentes adicionais. Estes dois fármacos constituíam (e constituem) a base do tratamento contra a tuberculose, visto que eram a combinação mais potente contra o bacilo de Koch.^[43,44]

Epidemiologia da MDR-TB

A resistência aos antibacilares na tuberculose continua a ser uma ameaça à saúde pública, por ter uma elevada mortalidade e ser responsável por cerca de 1/3 de todos os casos de morte devido a resistências antimicrobianas. Nos últimos 5 anos, o número de casos confirmados quase duplicou globalmente. Em 2018, houve cerca de meio milhão de novos casos de tuberculose resistentes a rifampicina (onde 78% tinham MDR-TB). A Índia (27%), a China (14%) e a Federação Russa (9%) são os países que registam os maiores números.

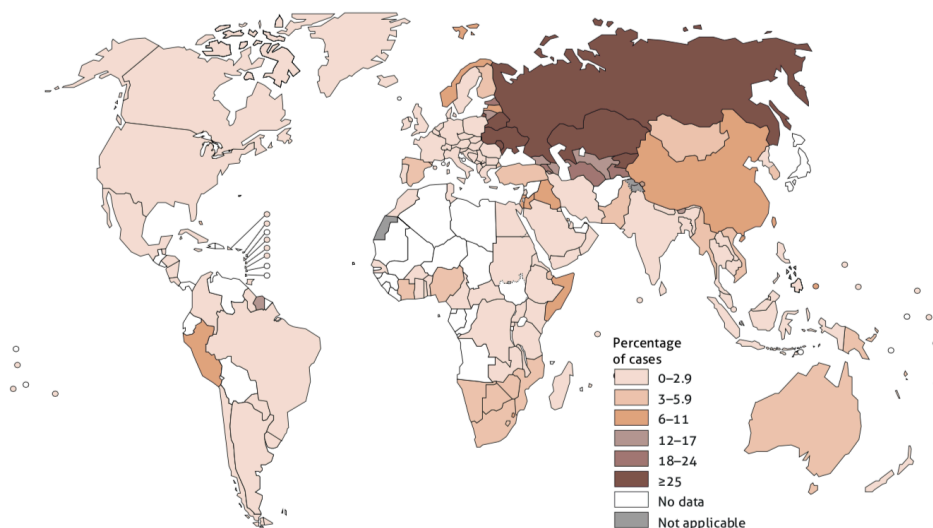


Figura 5 - Percentagem de novos casos de MDR/RR-TB, dados de 2004-2019. (adaptado de *WHO Global Tuberculosis Report 2020*^[2])

Globalmente, 3.4% dos novos casos de tuberculose e 18% dos casos já tratados têm MDR-TB ou resistência a rifampicina (RR-TB).^[2,45] A MDR-TB está associada a consequências económicas devastadoras e estima-se que pode custar à economia global cerca de 16.7 triliões de dólares entre 2015 e 2050.^[2,45]

A proporção de casos de co-infecção TB/HIV é maior em países africanos, excedendo os 55% na África Meridional. O risco de doentes HIV positivos desenvolverem tuberculose é cerca de 26 vezes superior à restante população mundial, mesmo entre os doentes que têm contagens de linfócitos CD4 elevadas.^[26]

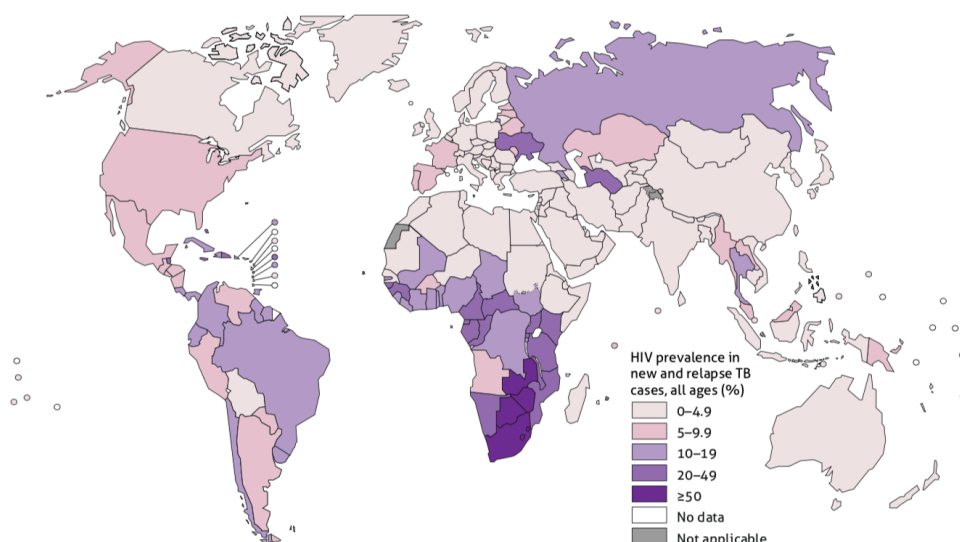


Figura 6 - Prevalência estimada de HIV em novos casos e de recidiva de tuberculose, 2018. (adaptado de *WHO Global Tuberculosis Report 2020*^[2])

Em Portugal, a incidência da MDR-TB/RR-TB foi de 1.3% dos casos de tuberculose em 2018 (0.98% nos novos casos e 6.9% nos retratamentos). Em 2018, o número total de casos de MDR-TB foi de 32 casos. ^[2]

Em comparação com dados estimados da Europa, a incidência da MDR-TB/RR-TB foi de 8,3 casos em 100.000 habitantes, o que corresponde a um número de 77.000 casos na Europa. A percentagem estimada de MDR-TB/RR-TB em novos casos na Europa foi de 18% e em casos previamente tratados 54%.^[2] Como referido anteriormente, a taxa de notificação da tuberculose em Portugal continua a diminuir.

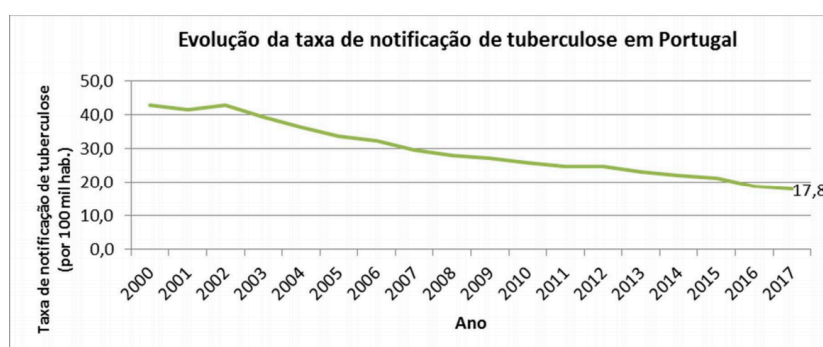


Figura 7 - Taxa de notificação de tuberculose em Portugal. (adaptado de *Observatório Nacional das Doenças Respiratórias 2017*).

A taxa de sucesso terapêutico em novos casos e recidiva de tuberculose registados em 2017 foi de 38%, na co-infecção HIV/TB de 26% e na MDR/RR-TB que iniciaram tratamento de segunda linha em 2016, 33%.^[2]

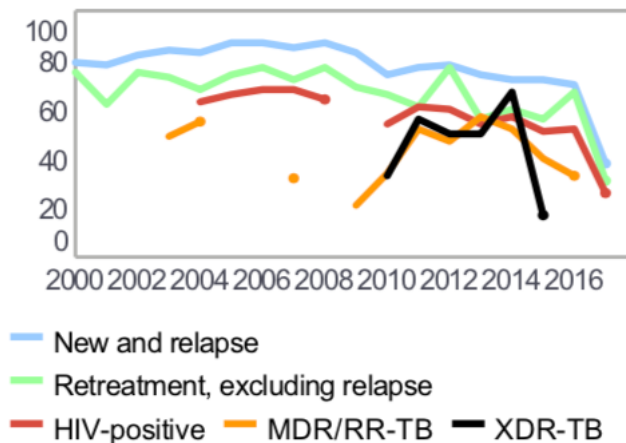


Figura 8 - Taxa de sucesso terapêutico. (adaptado de *WHO Global Tuberculosis Report 2019*^[2]).

A redução do número de casos de MDR-TB corresponde a um dos objetivos de atuação do Programa Nacional para a Tuberculose. A existência de centros de referência regionais de MDR-TB permitiu uma abordagem uniformizada no tratamento da doença, aumentando a sobrevivência e o sucesso terapêutico. Portugal já ultrapassou o limite definido como de baixa incidência de tuberculose.^[5]

Fatores de risco MDR-TB

A epidemia da MDR-TB é fortemente influenciada pelo desenvolvimento social e económico, e por fatores de risco relacionados com a saúde.^[2] De um modo geral, esses fatores de risco podem ser divididos em dois grupos: os que facilitam a seleção de resistência na comunidade (preditores de falência terapêutica) e as condições especiais que tornam alguns doentes mais vulneráveis à resistência.^[46]

Múltiplos são os fatores de risco, que contribuem para a origem e amplificação da tuberculose multirresistente, nomeadamente^[47]:

- Tratamento antibacilar anterior, incompleto ou inadequado, por baixa adesão;
- Atraso no diagnóstico;
- Doentes portadores de estirpes virulentas de MDR-TB;
- Virulência do microrganismo;
- Fatores genéticos do hospedeiro
- Co-infecção pelo HIV
- Diabetes Mellitus
- Situação clínica que podem reduzir os níveis séricos dos antibióticos (mal absorção, interações medicamentosas, outras co-morbilidades)
- Outros fatores como: subnutrição, tabagismo, consumo nocivo de álcool, baixa escolaridade, baixo rendimento socioeconómico.

A tuberculose multirresistente desenvolveu-se essencialmente devido a erros no tratamento da tuberculose cometidos no passado, como também ao mau funcionamento dos Programas Nacionais de Luta contra a Tuberculose, tais como: não implementação da estratégia TOD (toma sob observação direta), *guidelines* inadequadas, má organização e formação, falta de recursos, não utilização de regimes standard e a falta de monitorização da terapêutica.^[46]

Di Gennaro et al. fizeram uma revisão sistemática que englobou 50 estudos, em busca da relação dos determinantes sociais comuns na falência terapêutica e farmacorresistência em doentes com tuberculose. Concluíram que um baixo nível de escolaridade, um baixo rendimento e o abuso de álcool são preditores significativos para falência terapêutica e MDR-TB. Segundo este estudo, uma forma de reduzir as taxas de falência e MDR-TB seria prestar apoio diferenciado aos doentes com baixo rendimento, possibilitando um maior acesso aos serviços de saúde. Em relação ao abuso de álcool, acredita-se que possam estar associadas outras co-morbilidades a desempenhar um papel na falência terapêutica e por conseguinte MDR-TB, como por exemplo: cirrose hepática, desnutrição, distúrbios mentais, má *compliance*.^[48]

Em contrapartida, uma revisão sistemática e meta-análise desenvolvida por *Pradipta et al.* não demonstrou clara evidência na associação entre MDR-TB e fatores de risco como: baixa escolaridade, ausência de regime TOD, DM, doenças hepáticas, tabaco e abuso de álcool.^[49] Atendendo aos outros fatores de risco, foi tema de debate se o HIV é fator de risco para a MDR-TB. Segundo este artigo de revisão, o HIV é um fator de risco para a MDR-TB, depois de aplicadas as devidas análises de sensibilidade. Esta relação pode ser explicada pelo grau de imunocompetência e fatores relacionados com os fármacos. A imunossupressão pode levar a reativação de uma tuberculose latente, aumentar o risco de reinfeção e sua rápida progressão para tuberculose ativa. As interações medicamentosas, a toxicidade e má absorção dos fármacos, e a síndrome inflamatória de reconstituição imunológica podem ajudar a desenvolver farmacorresistência e falência terapêutica em doente co-infetados TB/HIV.^[49] Na situação particular dos doente HIV+, o diagnóstico e tratamento atempado da tuberculose é crucial. A taxa de mortalidade causada pela co-infeção HIV/TB é mais elevada no primeiro mês, devido ao estágio avançado da TB no momento do diagnóstico. O momento de início da terapêutica antibacilar vai depender da contagem de linfócitos CD4: se $CD > 100/uL$, primeiro preconiza-se tratar a TB durante 2 meses (evita agravamento da TB, por reconstituição imune e diminui efeitos secundários e interações medicamentosas); se $CD < 100/uL$, aumenta o risco de infeções oportunistas ou morte, pelo que se recomenda o início simultâneo do tratamento das duas condições.^[26] A rifampicina diminui os níveis séricos de antirretrovirais, e os antirretrovirais podem aumentar os níveis séricos de rifampicina

(toxicidade acrescida). Em relação à duração do tratamento, alguns autores recomendam 9 meses se a resposta clínica ou bacteriológica for lenta. Em doentes medicados com antirretrovirais (inibidor da protease e/ou inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo), prefere-se a rifabutina ao invés de rifampicina, por ter menor efeito indutor sobre o citocromo P450. Na impossibilidade de usar rifamicinas, preconiza-se a administração de estreptomicina durante 9 meses. ^[26,50]

Para além de comprovarem que a infeção pelo HIV é um fator de risco para o desenvolvimento de MDR-TB, os autores olharam ainda para outra co-morbilidade, a Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica (DPOC). Mostraram que doentes com DPOC são 2,5 vezes mais propensos a desenvolver tuberculose multirresistente do que os indivíduos sem doença. Curiosamente, noutros estudos evidenciou-se existir também a relação contrária, ou seja, doentes com tuberculose virem a desenvolver DPOC bem como alterarem a história natural da doença, como resultado de danos a longo prazo na estrutura e funcionalidade dos pulmões. ^[49,51,52]

A Etiópia é um dos países com maior carga de tuberculose definida pela WHO. Um estudo realizado por *Demille et al.* sobre os fatores de risco associados a MDR-TB num hospital militar desse país evidenciou que a baixa prevalência observada na população estudada, militares ativos ou reformados e civis, devia-se provavelmente aos melhores recursos de saúde, ao mais fácil acesso a medicação, ao controlo terapêutico e programas de higienização levados a cabo num Hospital daquela natureza. A diferença encontrada na percentagem de doentes com MDR-TB entre militares ativos e reformados (mais prevalente neste grupo) parece dever-se ao estilo de vida e idade dos doentes. Nas comunidades militares ativas, são normalmente implementados programas de educação em saúde e saneamento, o que certamente ajudou a reduzir a infeção por *M. tuberculosis*, tradicionalmente agravada pela falta de higiene e ventilação. ^[53] Outro fator que contribuiu para essa diferença foi o tratamento atempado aplicado nos militares ativos, sem qualquer custo associado, o que provavelmente reduziu a propagação da tuberculose multirresistente na comunidade militar. O contacto com indivíduos infectados e a co-infeção HIV foram os fatores de risco com significância estatística. ^[53]

Um estudo desenvolvido por *Mulisa et al.* comprovou algumas associações já anteriormente mencionadas, mas em contraste com outros estudos realizados na China e em vários outros países (Rússia, Africa do Sul, Tailândia, Coreia do Sul, Peru, Filipina, Letónia e Estónia), alguns fatores sociodemográficos como sexo, idade avançada (45-64) e estado civil não se correlacionaram com a ocorrência de MDR-TB na região de Oromia (Etiópia). ^[54-56]

Importa lembrar que a associação dos diferentes fatores de risco para a MDR-TB, varia consoante a região em estudo. Contudo, segundo a maioria dos estudos, independentemente da região, o maior preditor/fator de risco para o desenvolvimento de

MDR-TB é a história de tratamento antibacilar prévio.^[49,57] Um estudo realizado no Paquistão por *Ullah et al.* comprovou que a resistência aos antibacilares é cerca de 5 vezes mais frequente em doentes que previamente receberam tratamento para a tuberculose do que doentes definidos como caso novo e sensíveis aos antibacilares de primeira linha.^[58]

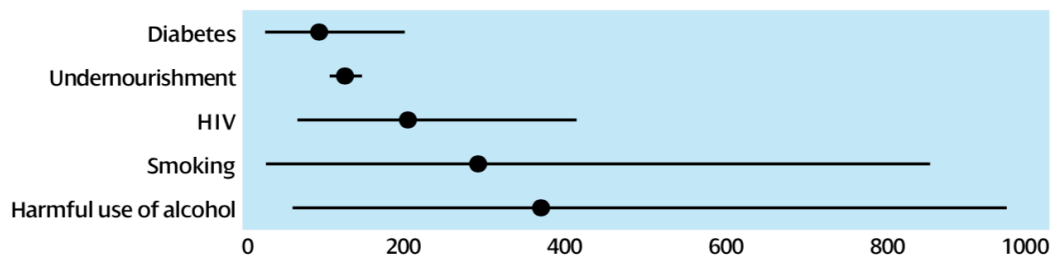


Figura 9 - Portugal: Número de casos de tuberculose atribuíveis a cinco fatores de risco, 2018. (adaptado de *WHO Global Tuberculosis Report 2019*^[21])

Clínica MDR-TB

Do ponto de vista da apresentação clínica, a tuberculose multirresistente não difere nas suas manifestações mas ocorre menos frequentemente por transmissão primária devido à baixa prevalência de casos de farmacorresistência. A tuberculose pulmonar é a apresentação mais comum nos casos de MDR-TB. Em casos específicos, como co-infecção pelo HIV ou outras patologias que cursam com imunossupressão, a tuberculose extrapulmonar pode estar presente. Deve-se suspeitar de farmacorresistência em doentes que não respondem clinicamente ao tratamento ou em que não houve conversão das culturas após 2 meses sob o esquema terapêutico standard.

A clínica da tuberculose é variável, nalguns casos podendo apresentar-se de forma assintomática. Geralmente, os doentes referem uma história de tosse crónica e/ou sintomas constitucionais não específicos, como anorexia, emagrecimento, sudorese nocturna, letargia ou febre/febrícula. Com o passar do tempo, a tosse torna-se produtiva com expectoração purulenta ou hemoptóica, pode surgir dor pleurítica, hemoptises ou dispneia. A evolução não tratada da doença leva a agravamento da sintomatologia, tanto mais grave quanto mais importante for o atingimento orgânico. O atingimento extra-pulmonar pode levar a manifestações clínicas menos comuns e, por isso, de maior dificuldade diagnóstica. O exame objetivo é muitas vezes inespecífico e a auscultação pulmonar variável, podendo apresentar-se normal. Quanto aos antecedentes pessoais, o fator mais importante é o contágio conhecido/contexto epidemiológico.

Tabela 6 - Manifestações clínicas da Tuberculose Pulmonar.

SINTOMAS CONSTITUCIONAIS	SINTOMAS RESPIRATÓRIOS
Febre	Tosse
Sudorese noturna	Hemoptises
Astenia, anorexia e perda de peso	Dispneia
Dificuldade concentração	Toracalgia
Irritabilidade	

Dependendo dos órgãos afetados, a sintomatologia pode ser variada, normalmente incluindo sempre sintomas constitucionais. Alguns exemplos na seguinte tabela.

Tabela 7 - Manifestações clínicas Tuberculose extrapulmonar.

TUBERCULOSE EXTRAPULMONAR	CLÍNICA
TB ganglionar	+comum, sobretudo nas co-infecção HIV +cadeia cervical posterior e supraclavicular Pode originar fistula de drenagem
TB pleural	Pode dar derrame volumoso Necessidade de toracocentese e biopsias pleurais
TB ORL	Disfonia, disfagia, tosse
TB genito-urinaria	Sintomas locais Piúria e hematúria
TB óssea	+ <i>weight-bearing joints</i> Pode formar abscessos paravertebrais

Métodos diagnóstico

O diagnóstico acertado e atempado de TB e MDR-TB é importante para o sucesso terapêutico. O *gold-standard* para o diagnóstico específico de tuberculose é identificar o microrganismo *M. tuberculosis* numa amostra (expetoração, líquido pleural, urina, pús, líquido cefalorraquidiano, medula óssea, biópsias ou peças excisadas). A imagiologia tem o seu contributo, ajudando a localizar as lesões e patologias associadas, e também permite guiar a aspiração das lesões, abscesso, ou biopsia do tecido para exame molecular ou microbiológico. A escolha do método diagnóstico molecular ou microbiológico vai depender do contexto clínico, dos recursos e das capacidades laboratoriais disponíveis. Existem vários métodos

disponíveis para abordagem de um caso suspeito de tuberculose: a microscopia, que permite identificação de bacilos acido-álcool resistentes (técnica de Ziehl-Neelsen), métodos de cultura e métodos moleculares.^[2,59]

Os métodos de cultura permitem o diagnóstico de tuberculose ativa, através da detecção do *M. tuberculosis* em amostras biológicas, com uma sensibilidade de 65% e uma especificidade de 100%. O meio de cultura sólido tradicional de *Lowenstein-Jensen* foi parcialmente substituído por sistemas automatizados de cultura em meio líquido, usando o limiar de detecção de aproximadamente 10 microrganismos por mililitro com base no meio de crescimento líquido Middle-Brook 7H9, com uma tecnologia de detecção de fluorescência sensível aos níveis de oxigênio, sendo que a cada 60 minutos o sistema procura aumento de fluorescência, refletindo a presença de bacilos viáveis. A *WHO* recomenda o meio de crescimento líquido como *gold standard* para teste confirmatório de tuberculose, embora, apesar de ser um método mais sensível que o meio sólido, é mais caro e complexo, com desafios em termos de contaminação. A desvantagem dos meios de cultura é o tempo necessário para o crescimento da micobactéria. Em meio líquido, requer pelo menos 9-10 dias para resultados positivos e 6 semanas para ser considerado negativo. Após a obtenção de uma cultura positiva, esta deve ser sujeita a teste de sensibilidade aos antibacilares (TSA).^[2,59]

A *WHO* simplificou o diagnóstico de MDR-TB através da implementação dos testes de PCR (*polymerase chain reaction*) no diagnóstico da tuberculose, principalmente com o teste *GeneXpert MTB/RIF*. Os métodos em cultura continuam a ser o *gold standard* para determinar a resistência aos antibacilares; no entanto, prevê-se que no futuro sejam substituídos por testes de sequenciamento completo do genoma.^[2]

O método *GeneXpert MTB/RIF*, é uma ferramenta que permite o diagnóstico de tuberculose de forma rápida. Este método permite a identificação simultânea do DNA do complexo *M. tuberculosis* e mutações no gene *rpoB* que conferem resistência a rifampicina, utilizando técnica de PCR em tempo real, numa única reação, apresentando resultados no espaço de 2 horas.^[59,60] Mais recentemente foi apresentado o teste *FluoroType MTBDR*, igualmente baseado em técnica PCR mas que acrescenta, para além das mutações de resistência a rifampicina, a pesquisa de resistência à Isoniazida, com resultados em cerca de 3 horas.^[59,60]

Tratamento MDR-TB

O tratamento da tuberculose multirresistente é mais complexo do que a tuberculose sensível aos antibacilares e ameaça o limite estabelecido pela *WHO* para a erradicação da tuberculose. Existe, portanto, a necessidade de definir recomendações claras sobre o

tratamento da MDR-TB, baseado nas mais recentes evidências. Em 2016, a *WHO* reorganizou a classificação dos antibacilares por grupos A, B, C e D, baseado na sua eficácia e segurança. O grupo A inclui as fluoroquinolonas, grupo B os injetáveis de segunda linha, o grupo C os outros agentes de segunda linha. O grupo D refere-se aos agentes complementares, subdividido em 3 grupos: D1 inclui pirazinamida, etambutol, e doses elevadas de isoniazida; D2 inclui bedaquilina e delamanid; D3 inclui o ácido para-aminosalicílico (PAS) e os carbapenemos. Em 2019, houve atualização da classificação, o grupo A passou a incluir as fluoroquinolonas, bequilina e linezolid, enquanto que o grupo B acrescentou clofazimina e cicloserina ou terizidona. O grupo C inclui os restantes fármacos (etambutol, delamanid, pirazinamida, carbapenemos, amicacina, etionamida e PAS). Os injetáveis foram removidos do Grupo B devido à sua toxicidade, possível falta de eficácia e piores resultados, a amicacina ainda é recomendada porque apresenta eficácia moderada. A nova abordagem deve instituir, se possível, todos os fármacos grupo A e depois os do grupo B e, se necessário, os do grupo C, no intuito de garantir um número de fármacos ativos maior do que 4. As recomendações apontam para um regime terapêutico com pelo menos 4 antibacilares efetivos nos primeiros 6 meses e 3 na fase de manutenção do tratamento, para uma duração total de 18-20 meses dependendo da resposta do doente.^[61]

Tabela 8 - Grupos de fármacos utilizados na MDR-TB. (adaptado de *WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment 2019*).

Grupos	Fármacos
Grupo A: <i>Inclui todos os 3 fármacos</i>	Levofloxacina ou moxifloxacina Bedaquilina Linezolid
Grupo B <i>Adicionar 1 ou ambos</i>	Clofazimina Cicloserina ou terizidona
Grupo C <i>Adicionar para completar o esquema terapêutico ou quando os fármacos do Grupo A e B não podem ser usados</i>	Etambutol Delamanid Pirazinamida Imipenem ou meropenem Amicacina ou Streptomina Etionamida ou protionamida Ácido Para-Aminosalicílico

A *WHO* tem um regime curto de tratamento, antes conhecido por *regime de Bangladesh*, que compreende um esquema terapêutico com uma duração variável entre 9 a 12 meses, e é composto por canamicina ou amicacina, moxifloxacina, protionamida ou etionamida, clofazimina, pirazinamida, doses elevadas de isoniazida e etambutol seguido de

5 meses de moxifloxacina, clofazimina, pirazinamida e etambutol. Estas recomendações são aplicáveis “em doentes com MDR/RR-TB que não foram tratados anteriormente por mais de 1 mês com fármacos de segunda linha usados no esquema terapêutico curto de MDR ou nos quais a resistência às fluoroquinolonas e agentes injetáveis de segunda linha foram excluídos”.^[59,61]

Considerações em casos específicos

Diabetes Mellitus (DM)

Os doentes diabéticos têm 2-3 vezes maior risco de desenvolver tuberculose. Os sintomas são geralmente mais marcados e têm atraso na conversão da cultura de expectoração, sendo que estudos recentes apontam a DM como fator de risco para MDR-TB. Os diabéticos devem, portanto, ser rastreados para tuberculose e receber tratamento preventivo. Se for o caso, devem também ser avaliados quanto ao risco de MDR-TB.^[59,62]

Envelhecimento

Os doentes geriátricos com MDR-TB tendem a apresentar formas mais graves de doença e maior risco de eventos adversos medicamentosos, para além de piores resultados e maior taxa de mortalidade. Estes fenómenos podem decorrer de um sistema imune já senescente, da presença de outras co-morbilidades e de interações medicamentosas.^[59,63]

Cirurgia e MDR-TB

A cirurgia torácica continua a ser uma opção terapêutica, para melhorar os resultados e obter cura, sobretudo quando em doença localizada e quando há poucos fármacos disponíveis, principalmente na fase de manutenção.^[59,64]

Reabilitação pulmonar

A reabilitação pulmonar parece ser eficaz nos doentes submetidos a cirurgia, sobretudo nos casos de MDR-TB onde a doença é extensa e o tratamento prolongado, uma vez que frequentemente originam sequelas pulmonares, resultando em possível insuficiência respiratória, compromisso funcional ventilatório e redução do desempenho no exercício.^[59,65]

MDR-TB no Sistema Nervoso Central

É uma situação clínica desafiadora, visto que existe um maior risco de sequelas e maus resultados clínicos. A penetração da barreira hemato-encefálica não é muito significativa, sendo que os fármacos que mostraram melhor penetração cerebral são pirazinamida, moxifloxacina, levofloxacina, linezolid, protionamida e cicloserina.^[59,66]

Discussão e Conclusão

A tuberculose é uma das 10 principais causas de morte a nível mundial, representando por esse motivo um problema de saúde pública e um desafio para os Programas de Luta contra a Tuberculose.

Em Portugal, a tuberculose tem vindo a diminuir, sendo atualmente definido como um país de baixa incidência, com 24 casos por cada 100.000 habitantes no ano de 2018. Contudo, este número pode ser inferior ao número real de casos, visto que se tem verificado uma diminuição da taxa de notificação da tuberculose, a um ritmo de 5,4% ao ano. A maior parte desses casos ocorre na população nativa, o que se opõe ao cenário verificado nos outros países da Europa Ocidental.

Do ponto de vista de transmissão e patogenia, o *M. tuberculosis* transmite-se de forma interpessoal através de gotículas aerossolizadas pela tosse, espirro ou fala. Essa exposição é influenciada por fatores exógenos ou ambientais e por fatores endógenos como a imunidade natural, celular e humoral do recetor. A maior parte dos estudos centram-se na relação *M. tuberculosis*-Macrófago, conferindo ao macrófago um papel chave na resposta à infeção, representando a primeira célula efetora recrutada na defesa do organismo, mas também o local de crescimento e multiplicação do microrganismo. No entanto, torna-se cada vez mais importante perceber o papel de outras células inflamatórias/imunitárias (neutrófilos, células dendríticas, entre outros) na patogenia desta patologia, abrindo a possibilidade a futuros estudos e alvos terapêuticos.

Em 1947, surgiram os primeiros antibacilares eficazes contra o *M. tuberculosis*. Atualmente, o esquema terapêutico de primeira linha contra a tuberculose sensível aos antibacilares engloba Isoniazida (H), Rifampicina (R), Pirazinamida (Z) e Etambutol (E), com uma duração total de 6 meses (2HRZE + 4HR), preferencialmente por toma sob observação direta. Como forma de aumentar a adesão, diminuir erros de prescrição e simplificar o tratamento, a *WHO* sugere combinações fixas de 2 ou mais antituberculosos.

A resistência aos antibacilares já era conhecida desde o início da terapêutica dirigida ao *M. tuberculosis*; contudo, não foi motivo de preocupações inicialmente uma vez que o esquema terapêutico instituído possibilitava a cura. No início da década de 90, nos Estados Unidos da América e na Europa, surge um surto de co-infeção TB/HIV que veio mudar o panorama de tratamento da tuberculose. Em 1994, a *WHO/IUATLD* vêem-se obrigadas a lançar um Programa de Vigilância Global de resistências aos antibacilares. A farmacoresistência da tuberculose aos antibacilares é o “novo” desafio da Organização Mundial de Saúde, pela elevada mortalidade que apresenta e pela ameaça à previsão da *WHO* para a erradicação da tuberculose no mundo, sem referir os elevados custos associados que acarreta.

As resistências devem-se sobretudo a mutações em genes específicos e envolvimento de outros mecanismos como baixa permeabilidade da parede celular, modificação enzimática e/ou nas bombas de efluxo, adaptações metabólicas.

No que se refere ao métodos de diagnóstico, tendem a ser cada vez mais inovadores, rápidos e eficazes, porém dependentes das capacidades do laboratório e da experiência profissional, o que por exemplo não se aplica à realidade dos países em desenvolvimento, causando ainda atrasos no diagnóstico e por conseguinte no tratamento.

De entre os diversos fatores de risco associados à tuberculose multirresistente, independentemente da região, o tratamento prévio com antibacilares é o fator de risco mais pertinente na emergência da multirresistência. A relação HIV/TB deve ser alvo de maior investigação, tanto na percepção da patogenia como no tratamento concomitante, dada a relevância e frequência de casos de co-infecção.

A estratégia para combater este novo paradigma da MDR-TB passa por investir em métodos que permitam o diagnóstico célere e o tratamento eficaz da tuberculose sensível aos antibacilares; um diagnóstico atempado e tratamento adequado da tuberculose multirresistente; a implementação de medidas efetivas de controlo da infeção; um aperfeiçoamento e maior regulação dos sistemas de saúde; a educação da população para os fatores de risco e determinantes sociais subjacentes.

Deve continuar-se a investigar novos alvos terapêuticos, novos regimes terapêuticos, novos fármacos, e promover um maior número de estudos que se debruce sobre a eficácia dos esquemas instituídos, a toxicidade envolvida, e não menos importante o custo dessas terapêuticas e a sua aplicabilidade em realidades menos favorecidas.

Agradecimentos

Este trabalho só foi possível com o apoio e colaboração de diversas pessoas às quais gostaria de expressar o meu agradecimento e reconhecimento pela ajuda prestada no decurso da sua elaboração, em particular:

À minha orientadora, Dra. Sara Freitas, pela sua orientação, atenção, amabilidade e pertinência das suas críticas e sugestões na elaboração da tese.

Ao meu co-orientador, Prof. Tiago Alfaro, pelo apoio prestado e disponibilidade.

À minha família sempre presente ao longo deste percurso académico, e em especial aos meus pais, pelo apoio e incentivo constantes.

Aos meus amigos, o meu profundo obrigado.

Referências bibliográficas

1. Glaziou P, Floyd K, Raviglione MC. Global Epidemiology of Tuberculosis. *Semin Respir Crit Care Med*. 2018;39(3):271–85.
2. WHO | Global tuberculosis report 2019. WHO. 2020;
3. Tuberculose PN para a. Tuberculose Em Portugal. *Acta Med Port*. 2018;
4. Programa Nacional para a Tuberculose. Tuberculose em Portugal: dados provisórios. 2019;2018.
5. Santos AC, Barreto C, Barata F, Froes F, Carvalho I, Pité I, et al. 13º Relatório do Observatório Nacional das Doenças Respiratórias. *Obs Nac das doenças Respir* [Internet]. 2017;66. Available from: https://www.ondr.pt/files/Relatorio_ONDR_2018.pdf
6. Heemskerk D, Caws M, Marais B, Farrar J. Tuberculosis in Adults and Children. 2015. 8–12 p.
7. Nogueira AF, Facchinetti V, Vinícius M, De Souza N, Rocha T, Vasconcelos A. Tuberculose: uma abordagem geral dos principais aspectos Tuberculosis: a general approach of the main aspects. Vol. 93, *Rev. Bras. Farm*. 2012.
8. Smith I. Mycobacterium tuberculosis Pathogenesis and Molecular Determinants of Virulence. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2003 [cited 2020 Jan 14];16(3):463–96. Available from: <http://cmr.asm.org/>
9. Bermudez LE, Goodman J. Mycobacterium tuberculosis invades and replicates within type II alveolar cells. *Infect Immun*. 1996;64(4):1400–6.
10. Philips JA, Ernst JD. Tuberculosis Pathogenesis and Immunity. *Annu Rev Pathol Mech Dis* [Internet]. 2012 Feb 28 [cited 2020 Jan 14];7(1):353–84. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-pathol-011811-132458>
11. Jordao L, Vieira O V. Tuberculosis: New Aspects of an Old Disease. *Int J Cell Biol*. 2011;2011:13.
12. Macdonald SH-F, Woodward E, Coleman MM, Dorris ER, Nadarajan P, Chew W-M, et al. Networked T cell death following macrophage infection by Mycobacterium tuberculosis. *PLoS One* [Internet]. 2012 [cited 2020 Jan 15];7(6):e38488. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22675566>
13. Sonawane A, Santos JC, Mishra BB, Jena P, Progida C, Sorensen OE, et al. Cathelicidin is involved in the intracellular killing of mycobacteria in macrophages. *Cell Microbiol*. 2011;13(10):1601–17.
14. Butler RE, Cihlarova V, Stewart GR. Effective generation of reactive oxygen species in the mycobacterial phagosome requires K⁺ efflux from the bacterium. *Cell Microbiol*. 2010;12(8):1186–93.

15. Ben Amar J, Dhahri B, Aouina H, Azzabi S, Baccar MA, El Gharbi L, et al. Tuberculosis treatment. Vol. 71, *Revue de Pneumologie Clinique*. Elsevier Masson SAS; 2015. p. 122–9.
16. World Health Organization. Guidelines for treatment of drug-susceptible tuberculosis and patient care : 2017 update. 56 p.
17. Nahid P, Dorman SE, Alipanah N, Barry PM, Brozek JL, Cattamanchi A, et al. Executive Summary: Official American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines: Treatment of Drug-Susceptible Tuberculosis. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2016 Oct 1 [cited 2020 Jan 16];63(7):853–67. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/ciw566>
18. Tiberi S, du Plessis N, Walzl G, Vjecha MJ, Rao M, Ntouni F, et al. Tuberculosis: progress and advances in development of new drugs, treatment regimens, and host-directed therapies. Vol. 18, *The Lancet Infectious Diseases*. Lancet Publishing Group; 2018. p. e183–98.
19. Ellard GA, Humphries MJ, Allen BW. Cerebrospinal Fluid Drug Concentrations and the Treatment of Tuberculous Meningitis. *Am Rev Respir Dis* [Internet]. 1993 Sep [cited 2020 Jan 17];148(3):650–5. Available from: <http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/ajrccm/148.3.650>
20. Thwaites GE, Bang ND, Dung NH, Quy HT, Oanh DTT, Thoa NTC, et al. Dexamethasone for the treatment of tuberculous meningitis in adolescents and adults. *N Engl J Med*. 2004 Oct 21;351(17).
21. Johnson DF, Stout JE. Corticosteroids for tuberculous pericarditis: Can we learn from variability? *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2018 May 1;22(5):475.
22. Campbell IA, Ormerod LP, Friend JAR, Jenkins PA, Prescott RJ. Six months versus nine months chemotherapy for tuberculosis of lymph nodes: Final results. *Respir Med*. 1993;87(8):621–3.
23. Saukkonen JJ, Cohn DL, Jasmer RM, Schenker S, Jereb JA, Nolan CM, et al. An official ATS statement: Hepatotoxicity of antituberculosis therapy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006 Oct 15;174(8):935–52.
24. Ramappa V, Aithal GP. Hepatotoxicity Related to Anti-tuberculosis Drugs: Mechanisms and Management. Vol. 3, *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. 2013. p. 37–49.
25. Saito N, Yoshii Y, Kaneko Y, Nakashima A, Horikiri T, Saito Z, et al. Impact of renal function-based anti-tuberculosis drug dosage adjustment on efficacy and safety outcomes in pulmonary tuberculosis complicated with chronic kidney disease. *BMC*

- Infect Dis [Internet]. 2019 Dec 2 [cited 2020 Jan 20];19(1):374. Available from: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-019-4010-7>
26. Tornheim JA, Dooley KE. Challenges of TB and HIV co-treatment: updates and insights. *Curr Opin HIV AIDS*. 2018;13(6):486–91.
 27. Loto OM, Awowole I. Tuberculosis in pregnancy: A review. Vol. 2012, *Journal of Pregnancy*. 2012.
 28. Antonova A V., Gryadunov DA, Zimenkov D V. Molecular Mechanisms of Drug Tolerance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol Biol*. 2018;52(3):372–84.
 29. Pasipanodya JG, Gumbo T. A new evolutionary and pharmacokinetic-pharmacodynamic scenario for rapid emergence of resistance to single and multiple anti-tuberculosis drugs. Vol. 11, *Current Opinion in Pharmacology*. Elsevier Ltd; 2011. p. 457–63.
 30. Goyal V, Kadam V, Narang P, Singh V. Prevalence of drug-resistant pulmonary tuberculosis in India: Systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2017;17(1).
 31. Woods GL, Wengenack NL, Grace Lin D, Barbara Brown-Elliott MA, Daniela Maria Cirillo M, Conville PS, et al. Susceptibility Testing of *Mycobacteria*, *Nocardia* spp., and Other Aerobic Actinomycetes [Internet]. 2018 [cited 2020 Jan 21]. Available from: www.clsi.org.
 32. ANTI-TUBERCULOSIS DRUG RESISTANCE IN THE WORLD Fourth Global Report. 2002.
 33. Gómez-Tangarife VJ, Gómez-Restrepo AJ, Robledo-Restrepo J, Hernández-Sarmiento JM. Drug resistance in *mycobacterium tuberculosis*: Contribution of constituent and acquired mechanisms. *Rev Salud Publica*. 2018;20(4):491–7.
 34. Zhang Y, Yew WW. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: Update 2015. Vol. 19, *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. International Union against Tubercul. and Lung Dis.; 2015. p. 1276–89.
 35. Mabhula A, Singh V. Drug-resistance in: *Mycobacterium tuberculosis*: Where we stand. *Medchemcomm*. 2019;10(8):1342–60.
 36. Nusrath Unissa A, Hanna LE. Molecular mechanisms of action, resistance, detection to the first-line anti tuberculosis drugs: Rifampicin and pyrazinamide in the post whole genome sequencing era. *Tuberculosis* [Internet]. 2017;105:96–107. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tube.2017.04.008>
 37. Miotto P, Zhang Y, Cirillo DM, Yam WC. Drug resistance mechanisms and drug susceptibility testing for tuberculosis. *Respirology*. 2018;23(12):1098–113.
 38. Andre E, Goeminne L, Cabibbe A, Beckert P, Kabamba Mukadi B, Mathys V, et al. Consensus numbering system for the rifampicin resistance-associated *rpoB* gene

- mutations in pathogenic mycobacteria. Vol. 23, *Clinical Microbiology and Infection*. Elsevier B.V.; 2017. p. 167–72.
39. Telenti A, Philipp WJ, Sreevatsan S, Bernasconi C, Stockbauer KE, Wieles B, et al. The emb operon, a gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* involved in resistance to ethambutol. *Nat Med*. 1997;3(5):567–70.
 40. Cheng S, Cui Z, Li Y, Hu Z. Diagnostic accuracy of a molecular drug susceptibility testing method for the antituberculosis drug ethambutol: A systematic review and meta-analysis. Vol. 52, *Journal of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology; 2014. p. 2913–24.
 41. Aubry A, Pan XS, Fisher LM, Jarlier V, Cambau E. *Mycobacterium tuberculosis* DNA Gyrase: Interaction with Quinolones and Correlation with Antimycobacterial Drug Activity. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Apr;48(4):1281–8.
 42. Khisimuzi Mdluli, Zhenkun Ma. *Mycobacterium tuberculosis* DNA Gyrase as a Target for Drug Discovery. *Infect Disord - Drug Targets*. 2008 Apr 18;7(2):159–68.
 43. Portaels F, Rigouts L, Shamputa IC, Van Deun A, Aziz MA. Anti-Tuberculosis drug resistance in the world 1994-1997. *Reichman Hershfield's Tuberc A Comprehensive, Int Approach*, Third Ed. 1997;
 44. Constant CA, Ferreira PB, Valadas E, Antunes F. Tuberculose multirresistente*. 2002;
 45. Dheda K, Gumbo T, Maartens G, Dooley KE, Murray M, Furin J, et al. The Lancet Respiratory Medicine Commission: 2019 update: epidemiology, pathogenesis, transmission, diagnosis, and management of multidrug-resistant and incurable tuberculosis. *Lancet Respir Med*. 2019;7(9):820–6.
 46. Caminero JA. Multidrug-resistant tuberculosis: epidemiology, risk factors and case finding. *Int J Tuberc Lung Dis* [Internet]. 2010 Apr [cited 2020 Jan 29];14(4):382–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20202293>
 47. Gomes C. As 17 recomendações para a gestão da tuberculose multirresistente. 2011;1–23.
 48. Di Gennaro F, Pizzol D, Cebola B, Stubbs B, Monno L, Saracino A, et al. Social determinants of therapy failure and multi drug resistance among people with tuberculosis: A review. *Tuberculosis* [Internet]. 2017;103:44–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tube.2017.01.002>
 49. Pradipta IS, Forsman LD, Bruchfeld J, Hak E, Alffenaar JW. Risk factors of multidrug-resistant tuberculosis: A global systematic review and meta-analysis [Internet]. Vol. 77, *Journal of Infection*. Elsevier Ltd; 2018. 469–478 p. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2018.10.004>
 50. Aaron L, Saadoun D, Calatroni I, Launay O, Mémain N, Vincent V, et al. Tuberculosis in HIV-infected patients: A comprehensive review. *Clinical Microbiology and Infection*.

- 2004.
51. Yakar HI, Gunen H, Pehlivan E, Aydogan S. The role of tuberculosis in COPD. *Int J COPD*. 2017 Jan 17;12:323–9.
 52. Kim JH, Park JS, Kim KH, Jeong HC, Kim EK, Lee JH. Inhaled corticosteroid is associated with an increased risk of TB in patients with COPD. *Chest*. 2013;143(4):1018–24.
 53. Demile B, Zenebu A, Shewaye H, Xia S, Guadie A. Risk factors associated with multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) in a tertiary armed force referral and teaching hospital, Ethiopia. *BMC Infect Dis*. 2018;18(1):1–10.
 54. Mulisa G, Workneh T, Hordofa N, Suaudi M, Abebe G, Jarso G. Multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis and associated risk factors in Oromia Region of Ethiopia. *Int J Infect Dis [Internet]*. 2015;39:57–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2015.08.013>
 55. Farazi A, Sofian M, Zarrinfar N, Katebi F, Hoseini SD, Keshavarz R. Drug resistance pattern and associated risk factors of tuberculosis patients in the central province of iran. *Casp J Intern Med*. 2013;4(4):785–9.
 56. Dalton T, Cegielski P, Akksilp S, Asencios L, Caoili JC, Cho SN, et al. Prevalence of and risk factors for resistance to second-line drugs in people with multidrug-resistant tuberculosis in eight countries: A prospective cohort study. *Lancet*. 2012 Oct;380(9851):1406–17.
 57. Faustini A, Hall AJ, Perucci CA. Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe: A systematic review. Vol. 61, *Thorax*. 2006. p. 158–63.
 58. Ullah I, Javaid A, Tahir Z, Ullah O, Shah AA, Hasan F, et al. Pattern of Drug Resistance and Risk Factors Associated with Development of Drug Resistant Mycobacterium tuberculosis in Pakistan. *PLoS One*. 2016;11(1):e0147529.
 59. Tiberi S, Zumla A, Migliori GB. Multidrug and Extensively Drug-resistant Tuberculosis: Epidemiology, Clinical Features, Management and Treatment. *Infect Dis Clin North Am*. 2019;33(4):1063–85.
 60. Gilpin C, Korobitsyn A, Weyer K. Current tools available for the diagnosis of drug-resistant tuberculosis. *Ther Adv Infect Dis*. 2016 Dec;3(6):145–51.
 61. Sharma SK, Dheda K. What is new in the WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment? Vol. 149, *Indian Journal of Medical Research*. 2019. 309–312 p.
 62. Tegegne BS, Mengesha MM, Teferra AA, Awoke MA, Habtewold TD. Association between diabetes mellitus and multi-drug-resistant tuberculosis: Evidence from a systematic review and meta-analysis 11 *Medical and Health Sciences* 1117 *Public Health and Health Services*. *Syst Rev*. 2018 Oct 15;7(1).

63. Seto J, Wada T, Suzuki Y, Ikeda T, Mizuta K, Yamamoto T, et al. Mycobacterium tuberculosis transmission among elderly persons, Yamagata Prefecture, Japan, 2009–2015. *Emerg Infect Dis.* 2017 Mar 1;23(3):448–55.
64. Dara M, Sotgiu G, Zaleskis R, Migliori GB. Untreatable tuberculosis: Is surgery the answer? *Eur Respir J.* 2015 Mar 1;45(3):577–82.
65. Pontali E, Sotgiu G, Tiberi S, Tadolini M, Visca D, D'Ambrosio L, et al. Combined treatment of drug-resistant tuberculosis with bedaquiline and delamanid: A systematic review. Vol. 52, *European Respiratory Journal*. European Respiratory Society; 2018.
66. Wilkinson RJ, Rohlwink U, Misra UK, Van Crevel R, Mai NTH, Dooley KE, et al. Tuberculous meningitis. Vol. 13, *Nature Reviews Neurology*. Nature Publishing Group; 2017. p. 581–98.