

GLAURA REGINA DE CASTRO E CALDO LIMA

**Avaliação da resistência aos tuberculostáticos de primeira linha em cepas do
Complexo *Mycobacterium tuberculosis* isolados no Distrito Federal**

Brasília

2015

Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

**Avaliação da resistência aos tuberculostáticos de primeira linha em cepas do
Complexo *Mycobacterium tuberculosis* isoladas no Distrito Federal**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção
do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas pelo
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas
da Universidade de Brasília

Orientadora: Prof. Dra. Janeth de Oliveira Silva Naves

Brasília

2015

GLAURA REGINA DE CASTRO E CALDO LIMA

**Avaliação da resistência aos tuberculostáticos de primeira linha em cepas do
Complexo *Mycobacterium tuberculosis* isoladas no Distrito Federal**

Aprovada em 21 de dezembro de 2015.

Banca Examinadora:

Presidente: Prof^a. Dr^a Janeth de Oliveira Silva Naves – PPGCF-UnB

Membro: Prof^a. Dr^a Maria do Socorro Nantua Evangelista – PPGCS-UnB

Membro: Prof. Dr. Edgar Merchamm Hamamm – PPGCS-UnB

Membro: Prof. Dr. Felipe Saldanha de Araújo – PPGCF-UnB

Membro: Prof. Dr. Mauro Niskier Sanchez – PPGSC-UnB

Suplente: Prof^a Dr^a Angélica Amorim Amato – PPGCS-UnB

Dedico este trabalho aos meus filhos Maria Eduarda e Vítor e ao meu afilhado Matheus, para que desde pequenos valorizem a importância dos estudos; ao meu marido Eduardo, pelo apoio incondicional; aos meus pais, que me permitiram chegar até aqui; à minha irmã Janay, pelo incentivo e por me substituir nas minhas ausências maternas e familiares; e à minha grande amiga Pérola - quem encontrou um amigo encontrou, no meu caso, uma Pérola.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas tantas oportunidades que me proporcionou e por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

Aos meus filhos, por entenderem todas as minhas ausências, eu peço perdão.

Ao meu marido, por todas as noites não dormidas e por todas as infinitas formatações e correções gramaticais, a minha eterna gratidão.

Aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicionais.

À minha orientadora, Professora Dra. Janeth de Oliveira Silva Naves, pela orientação, ensinamentos e confiança depositada durante todo este projeto.

À Professora e amiga Dra. Pérola de Oliveira Magalhães Dias Batista, pelas sugestões e pelo apoio dados nas horas mais difíceis.

Aos queridos amigos Francisco Duarte Vieira, Ana Lúcia Atta Sarmento, Antônia Edyni Ramalho, por me capacitarem no diagnóstico laboratorial das micobactérias.

Aos colegas Fabiano, Alberto, Carlos, Henriete, Maria, Ivanilda e Marcos, do Laboratório de Micobactérias do LACEN-DF, que contribuíram diretamente para a realização deste trabalho, sem os quais este não seria possível.

A todos os colegas e à direção do LACEN-DF, pelo incentivo, apoio e ajuda.

Aos colegas do Programa de Controle da Tuberculose do DF, pelo suporte e ajuda na obtenção dos dados do SINAN.

Ao Centro de Referência Professor Hélio Fraga – FIOCRUZ-RJ, pelo apoio e suporte técnico.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

*"Comece fazendo o que é necessário. Depois, o que é possível,
e de repente você estará fazendo o impossível. "*
São Francisco de Assis

RESUMO

LIMA, Glaura Regina de Castro e Caldo. **Avaliação da resistência aos tuberculostáticos de primeira linha em cepas do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* isoladas no Distrito Federal**. Brasília, 2015. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

A tuberculose (TB) continua sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo, necessitando a TB multirresistente de medidas para ser evitada por ser uma ameaça para o mundo. Determinar se a terapia com quatro drogas em dose fixa combinada (4-DFC) é mais eficaz e mais segura que aquela com drogas separadas (DS) para o tratamento de tuberculose pulmonar na literatura e avaliar a resistência aos tuberculostáticos de primeira linha nos isolados do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* no Distrito Federal foram os objetivos deste trabalho. Para analisar o novo tratamento para TB pulmonar foi realizada uma revisão sistemática com meta-análise dos estudos encontrados e para avaliar a resistência aos tuberculostáticos de primeira linha foi realizado um estudo transversal descritivo no LACEN-DF com cepas coletadas no período de 2001 a 2013 que comparou os perfis de sensibilidade antes e após a introdução do novo tratamento para TB. No período de 2011 a 2013 foi comparado um método tradicional de detecção de resistência (SIRE BACTEC MGIT 960®) com um teste molecular (Genotype MTBDRplus®), capaz de detectar as principais mutações nos genes associados à resistência à rifampicina e à isoniazida. As taxas de resistência secundária aos tuberculostáticos de primeira linha no período de 2001 a 2013 foram de 4,8% à isoniazida, 1,3% à rifampicina e 4,7% à estreptomicina. As taxas de MDR-TB, XDR-TB e de outras resistências foram de 7,7%, 0,7% e 0,7%, respectivamente. Comparando o período de 2001-2003 com 2011-2013 pôde-se observar uma tendência de diminuição da multirresistência e uma elevação da monorresistência aos tuberculostáticos de primeira linha nos períodos analisados. A taxa de multirresistência secundária caiu após a introdução do novo tratamento, permitindo ao paciente maior chance de cura com a utilização de medicamentos menos tóxicos e de menor custo para o Estado. A monorresistência à estreptomicina aumentou, indicando uma possível reativação endógena por cepas anteriores à década de 1980. As mutações encontradas no gene *rpoB*, responsável pela resistência à rifampicina, se localizavam no códon 531, enquanto as associadas à resistência à isoniazida, no códon 315 do gene *KatG* e no códon 15 do gene *inhA*. A acurácia do teste GenoType MTBDRplus® no DF para a detecção da resistência à rifampicina e à isoniazida foi confirmada quando comparada ao teste de sensibilidade convencional com menor tempo de

resposta na detecção de resistência aos fármacos. Em decorrência dos resultados encontrados neste trabalho o ensaio GenoType MTBDRplus® foi incluído na rotina do LACEN-DF para o diagnóstico precoce da TB e controle de sua multidroga resistência no DF, trazendo assim benefícios substanciais para o diagnóstico rápido da TB e do seu perfil de resistência.

Palavras-chaves: Tuberculose, multidroga resistência, rifampicina, isoniazida, rpoB, KatG, inhA.

ABSTRACT

LIMA, Glaura Regina de Castro e Caldo. **Evaluation of resistance to first-line tuberculostatic drugs in isolates of *Mycobacterium tuberculosis* Complex in Federal District.** Brasília, 2015. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

Tuberculosis (TB) continues to be a major cause of morbidity and mortality worldwide and the multi-drug resistant TB is a threat to the world and needs measures to be avoided. To evaluate whether the four-drug therapy in fixed dose combination (4-FDC) is more effective and safer than the separate drugs (SD) therapy for the treatment of pulmonary TB in the literature and determine the resistance to first-line antituberculosis drugs in isolates of *Mycobacterium tuberculosis* in the Federal District were the objectives of this work. A systematic review with meta-analysis of studies found was conducted to analyze the new treatment for pulmonary TB, and to evaluate the resistance to first-line tuberculostatic drugs in isolates of *Mycobacterium tuberculosis* complex in Federal District of Brazil a cross-section descriptive study was undertaken in LACEN-DF in isolates collected from 2001 to 2013. A comparison of the sensitivity profiles before and after the introduction of the fixed-dose combination treatment for tuberculosis. From 2011 to 2013 (sensitivity tests using the SIRE BACTEC MGIT 960® system were compared with a molecular one using Genotype MTBDRplus®, capable to detect the main mutations of genes associated to resistance to rifampicine and to isoniazide. The secondary resistance rates to first-line antituberculosis drugs in the period 2001-2013 were 4.8% to isoniazid, 1.3% to rifampicin and 4.7% to streptomycin. The rates of MDR-TB, XDR-TB and other resistances were 7.7%, 0.7% and 0.7%, respectively. Comparing the period 2001-2003 with 2011-2013, a tendency of decrease in multidrug resistance was observed, with an increase of monoresistance to first-line antituberculosis drugs in the analyzed periods. The rate of secondary multi-resistance has fallen after the introduction of the new treatment, which gives patients higher chance of healing taking less toxic drugs that are cheaper for the government. The mono-resistance to streptomycin increased, indicating a possible endogenous reactivation by isolates before 1980 decade. The mutations found in the *rpoB* gene, responsible for resistance to rifampicin, were located at codon 531 and those responsible for resistance to isoniazid in the *katG* gene at codon 315 and in the *inhA* gene at codon 15. The accuracy of GenoType MTBDRplus® in DF for detecting the resistance to rifampicine and to isoniazide was confirmed when

compared with the conventional sensitivity test with less response time for detecting the resistance. According to results found in this work the GenoType MTBDRplus® essays was included in the routine of LACEN-DF for the early diagnose and control of multidrug-resistant tuberculosis in Federal District, producing substantial benefits for the fast diagnosis confirmation and its resistance profile.

KEY WORDS: Tuberculosis, multidrug resistance, rifampicine, isoniazide, rpoB, KatG e inhA.

Lista de Figuras

Figura 1- Tuberculose pulmonar produtiva; Granulomas em processo de cura.	6
Figura 2- Micobactéria corada pela técnica de Ziehl-Neelsen observada no aumento de 1000 x.	15
Figura 3- Tipos de interpretações do GenoType MTBDRplus®.	39
Figura 4- Tipos de entrada dos casos notificados de Tuberculose: Distrito Federal, Adaptado SINAN 2001-2013.	41
Figura 5- Distribuição de todos os casos por regiões administrativas. Adaptado do SINAN DF 2001-2013.	42
Figura 6- Número de casos de TB segundo grupos etários e sexo. Adaptado do SINAN DF 2001-2013.	42
Figura 7- Número de notificações dos casos de MDR-TB, SINAN, SITETB e LACEN-DF.	45

Lista de Quadros e Tabelas

Quadro 1- Classificação da patogenicidade das espécies de micobactérias	10
Quadro 2- Critérios para Leitura e Interpretação dos Resultados da Baciloscopia de Escarro, após Concentração ou não, corada pelo Método de Ziehl-Neelsen.	16
Quadro 3- Esquema básico para tratamento de TB no Brasil	22
Quadro 4- Distribuição dos Serviços de Saúde por Regionais de Saúde Regiões Administrativas e presença do Programa de Controle da Tuberculose (PCT).	26
Quadro 5- Variáveis analisadas na ficha de notificação/investigação e encerramento de tuberculose.	33
Tabela 1- Critérios de resistência do Complexo <i>M. tuberculosis</i> às drogas tuberculostáticas	37
Tabela 2- Realização de baciloscopias de diagnóstico e acompanhamento de tratamento. Adaptado do SINAN DF 2001-2013.	43
Tabela 3- Cultura e testes diagnósticos para HIV dos casos notificados de TB. Adaptado do SINAN DF 2001-2013.	44
Tabela 4- Casos de Tuberculose segundo a situação de encerramento. Adaptado do SINAN DF 2001-2013.	44
Tabela 5- Perfil de resistência aos tuberculostáticos entre 2001-2013. LACEN/GBM/LMT/SES-DF.	46
Tabela 6- Casos de resistência no DF. LACEN/GBM/LMT/SES-DF.	47
Tabela 7- Primers usados para PCR dos genes de resistência às drogas do <i>M. tuberculosis</i>	48
Tabela 8- Correspondência entre as sondas do GenoType MTBDRplus® e os seus respectivos gene, códon e mutação. Hain Lifescience.	49
Tabela 9- Mutações encontradas nas cepas de 2011-2013 analisadas com o GenoType MTBDRplus®. LACEN/GBM/LMT/SES-DF.	50

Lista de Abreviaturas e Siglas

- 4-FDC - four drugs in fixed-dose combination
- 4-DFC – quatro drogas em dose fixa combinada
- AIDS - síndrome da imunodeficiência adquirida
- BAAR - bacilo álcool-ácido-resistente
- BCG – Bacilo de Calmette - Guérin
- CMTB – Complexo *Mycobacterium tuberculosis*
- DF – Distrito Federal
- DNA – ácido desoxirribonucléico
- DR - *direct repeated*
- E - etambutol
- ECRs -ensaios clínicos randomizados
- Et - etionamida
- H - isoniazida
- HIV - vírus da imunodeficiência humana
- HTT – hipersensibilidade tipo tardia
- IFN – interferon
- IL – interleucinas
- K – kanamicina
- LACEN-DF – Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal
- LJ - Löwenstein-Jensen
- MDR-TB - tuberculose multidrogas-resistente
- MR – multirresistência
- MS – Ministério da Saúde
- NALC–NaOH - N-acetil, L-cisteína hidróxido de sódio
- OMS - Organização Mundial da Saúde

PAS - ácido para-aminossalicílico

PCR – *polimerase chain reaction*

pH - potencial hidrogeniônico

PNB- ácido para-nitrobenzóico

PNCT - Programa Nacional de Controle da Tuberculose

PPD - derivado proteico purificado

R - rifampicina

RDRR (região determinante de resistência à rifampicina)

RNA – ácido ribonucleico

S - estreptomicina

SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SITETB – Sistema de Informação de tratamentos especiais para tuberculose

TB - tuberculose

TCH - hidrazida do ácido tiofeno 2-carboxílico

TNS – fator de necrose tumoral

TR - taxa de resistência

WHO -World Health Organization

XDR-TB – Tuberculose extremamente resistente

Z - pirazinamida

Sumário

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Situação da tuberculose no Mundo no Brasil e no DF	3
2.2 Tuberculose	4
2.3 Fisiopatologia e mecanismos imunológicos da TB	6
2.4 Transmissão	8
2.5 O micro-organismo e o Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	9
2.6 Diagnóstico	11
2.6.1 História clínica	12
2.6.2 Exame radiológico	12
2.6.3 Testes imunológicos	13
2.6.4 Baciloscopia	14
2.6.5 Cultura	16
2.7 Profilaxia	18
2.8 Tratamento	19
2.9 Mecanismo de resistência aos tuberculostáticos	24
2.10 Organização dos Serviços de Saúde do Distrito Federal	25
3 OBJETIVOS	30
3.1 Objetivo geral	30
3.2 Objetivos específicos	30
4 MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 Desenho geral do estudo	31
4.2 Período de estudo	31
4.3 Casuística	31
4.4 Comparação da eficácia e segurança das 4-DFC versus DS na literatura	31
4.5 Caracterização dos casos de TB no DF	32
4.6 Critérios de inclusão e exclusão	33
4.7 Definição de termos	34
4.7.1 Tuberculose confirmada	34
4.7.2 HIV positivo	34
4.7.3 Monorresistência	34

4.7.4 Multirresistência	34
4.7.5 Outros padrões de resistência	34
4.7.6 Extensivamente resistente aos tuberculostáticos	34
4.8 Protocolo	35
4.8.1 Baciloscopia concentrada	35
4.8.2 Cultura	35
4.8.3 Identificação	36
4.8.4 Teste de sensibilidade	36
4.8.5 Identificação genotípica das cepas resistentes 2011 – 2013	37
4.9 Considerações éticas	39
5 RESULTADOS	40
5.1 Comparação da eficácia e segurança das 4-DFC versus DS na literatura	40
5.2 Caracterização dos casos de TB no DF	40
5.3 Perfil de sensibilidade das cepas do CMTB de 2001 a 2013 no DF	45
5.4 Comparação dos perfis de sensibilidade antes e após a introdução do novo tratamento para TB	47
5.5 Mutações genéticas nos genes rpoB, KatG e inhA no período 2011- 2013	48
6 DISCUSSÃO	51
7 CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS	58
APÊNDICE	69
ANEXOS	93
Anexo A Aprovação do Comitê de Ética	93
Anexo B Ficha de Notificação de Investigação de TB	94

1 INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é a principal causa de morte no mundo por um agente infeccioso único. Quase um terço da população mundial, cerca de dois bilhões de pessoas, está infectado com *Mycobacterium tuberculosis* e em risco de desenvolver a doença. Anualmente, mais de oito milhões desenvolvem TB ativa, dos quais dois milhões vêm a morrer (WHO, 2015). Em todo o mundo, mais de 90% dos casos de TB e das mortes ocorrem nos países em desenvolvimento, onde 75% dos casos estão na idade de maior produtividade econômica (15-54 anos) (Sulis *et al.*, 2014). No Brasil, a taxa de incidência estimada é de 44 casos por 100 mil habitantes (WHO, 2015).

A coinfeção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) aumenta significativamente o risco de vir a desenvolver TB (Brunello *et al.*, 2011; Raviglione *et al.*, 2014; Borgdorff, Cain e Decock, 2015). Os países com alta prevalência de HIV, particularmente nos anos 1990, tiveram suas taxas de incidência aumentadas da ordem de três a quatro vezes (Peruhype *et al.*, 2014; Saúde., 2014).

Simultaneamente, em diversos países, a multirresistência do bacilo da TB, conceituada como a resistência à H (H) e à rifampicina (R), os dois principais fármacos para o tratamento da TB, é um problema crescente e muito preocupante. A mutação em genes específicos do bacilo é o principal mecanismo de resistência em relação a um determinado medicamento e ocorre quando a bactéria permanece em um ambiente em que a concentração do fármaco é menor do que a concentração inibitória mínima, indicando medidas de tratamento inadequadas (Ducati *et al.*, 2006; Abubakar *et al.*, 2013).

O Ministério da Saúde (MS), após constatar, pelo II Inquérito Nacional de Resistência aos Fármacos anti-TB, conduzido em 2007-2008, o aumento da resistência primária, ou seja casos novos diagnosticados como resistentes à H isolada ou associada à R, editou nota técnica alterando o tratamento para TB para os pacientes acima de 10 anos introduzindo os comprimidos em dose fixa combinada de R, H, Z e E (E) (dois primeiros meses), seguido de R e H (quatro meses), que começaram a ser dispensados no Distrito Federal (DF) a partir de julho de 2010 (Brasil, 2011).

Para embasar a presente tese foi realizada, inicialmente, uma revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados que compararam a eficácia e a segurança do tratamento da TB pulmonar em um regime de quatro drogas em dose fixa combinada *versus* drogas separadas.

Esses estudos avaliaram a eficácia devido a uma possível alteração da biodisponibilidade da R, um dos principais fármacos para o tratamento da TB, nas preparações em doses fixas.

Esse novo cenário para o tratamento da TB no Brasil estimulou a investigação da resistência aos tuberculostáticos de primeira linha no DF por meio da comparação dos perfis de resistência das cepas do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* isoladas antes e após a introdução do novo tratamento para TB, assim como a caracterização das principais mutações genéticas nos genes *rpoB*, *KatG* e *inhA* das cepas isoladas de 2011 a 2013.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Situação da TB no Mundo, no Brasil e no Distrito Federal

A TB é considerada uma das mais antigas doenças infecciosas da humanidade e, embora passível de um efetivo tratamento, permanece na atualidade como um importante problema de saúde pública mundial em virtude da ampla dispersão geográfica, emergência de casos multirresistentes e coinfeção com HIV (Lönnroth *et al.*, 2009).

Segundo relatório da Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2014 foram detectados 9,6 milhões de novos casos da doença no mundo (WHO, 2015). No Brasil, dados da OMS divulgados pelo Ministério da Saúde mostram que o país ocupa a 19ª posição na lista das 22 nações que concentram 80% dos casos da doença no mundo. Em 2014, ocorreram 73.970 novos casos e recidivas, com uma taxa de incidência de 44 por 100 mil habitantes e com 2,6 óbitos por 100 mil habitantes por TB (WHO, 2015).

No Brasil, a TB foi introduzida com a vinda de jesuítas e imigrantes durante a colonização. Parte deles eram pessoas com tuberculose e vieram para o novo continente visando às qualidades climáticas tropicais, pois acreditavam que seriam favoráveis ao processo de cura da doença. Por ser uma doença infecciosa, a disseminação foi muito rápida e se tornou uma epidemia nas maiores cidades brasileiras (Guimarães *et al.*, 2012).

Estimativas previam que ela fosse erradicada nos países desenvolvidos, porém a ocorrência da infecção pelo HIV provocou uma alteração na tendência epidemiológica da TB que, com isso, voltou a representar uma significativa infecção oportunista associada à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). Nos países em desenvolvimento, devido ao grande desequilíbrio social, a TB sempre foi um problema de saúde pública (Dye *et al.*, 2009).

A coinfeção HIV/TB acabou provocando um agravamento dessa situação, fazendo com que a TB voltasse a ter, nos últimos anos, grande importância dentro do contexto mundial (Dirlikov, Raviglione e Scano, 2015; Zielonka, 2015). Dado o recrudescimento de casos novos de TB pelo surgimento da AIDS, muitos autores tendem a considerar a TB como um problema reemergente de saúde pública. No entanto, essa alternativa parece ser válida apenas para países desenvolvidos. Em países em desenvolvimento como o Brasil, a TB não é problema de saúde pública emergente, tampouco reemergente, mas um problema constante e presente em nosso meio (Protti *et al.*, 2010).

Por sua grandeza, potencial de disseminação e vulnerabilidade, a TB situa-se entre as Doenças de Notificação Compulsória no Brasil desde 1902 (Costa, 1986). É uma doença que acomete principalmente pessoas na faixa etária de maior capacidade produtiva entre 20 e 49 anos. A incidência no gênero masculino normalmente é superior à do gênero feminino, e a forma pulmonar é a forma clínica da doença que mais acomete a população (Dirlikov, Raviglione e Scano, 2015).

No DF, com uma população de 2,570.160 em 2010 (IBGE, 2010), a taxa de incidência foi de 11,7 por 100.000 habitantes, com 328 casos novos notificados, e o coeficiente de mortalidade em 2013 foi de 0,7 óbitos por 100.000 habitantes. Comparando com as demais Unidades Federadas, o DF possui um dos menores coeficiente de incidência de TB do país. Apresentou, em 2013, 78,2% de taxa de cura de bacilíferos e 5,1% de taxa de abandono ao tratamento (Brasil, 2014).

De acordo com a OMS, dos 4,7 milhões de casos de TB notificados pelos 27 países com maiores incidências de TB em 2009, cerca de 250 mil foram estimados como sendo MDR-TB (DUCATI *et al.*, 2006). Esses países relataram ao menos 4.000 casos de MDR-TB ocorrendo anualmente ou 10% dos novos casos de TB registrados são de MDR-TB (WHO, 2014).

2.2 Tuberculose

A TB é uma doença infectocontagiosa crônica, causada por micobactérias do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB). Seu principal agente etiológico é também chamado de bacilo de Koch e apresenta resistência à ação de agentes químicos e sensível ao calor e a radiação ultravioleta (Dalcolmo, 2012; Herve *et al.*, 2015).

Na espécie humana, a doença é quase exclusivamente causada pelo *M. tuberculosis*, embora as diferentes espécies do CMTB possam produzir quadro clínico semelhante à TB, sendo necessário estabelecer diagnóstico diferencial por cultivo, identificação bioquímica ou por técnicas moleculares (Ismail *et al.*, 2015). O agente etiológico acomete em especial os pulmões, podendo também atingir outros sítios anatômicos (TB extrapulmonar). Os locais mais comumente atingidos além dos pulmões são a pleura e os gânglios linfáticos ou ocorrer de maneira disseminada, a chamada TB miliar (Gunes *et al.*, 2015).

A transmissão dá-se por via aérea pela inalação de aerossóis produzidos pela pessoa infectada e portadora da TB pulmonar ativa, por meio de tosse, espirro ou fala. Os bacilos

presentes nessas secreções são atomizados em gotículas microscópicas que são levadas até a árvore brônquica e atingem os alvéolos, onde os bacilos iniciarão o processo patológico da doença, caso consigam ultrapassar os mecanismos de defesa inespecíficos e multiplicar-se dentro do macrófago alveolar (Conde *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2014). Se isso ocorrer, será gerada uma reação inflamatória local que leva à formação de um foco pulmonar. A partir desse foco ocorrerá a disseminação linfática até o gânglio satélite (foco ganglionar) e, em seguida, a disseminação hematogênica para todo o organismo, podendo resultar em TB disseminada ou em formas pulmonares e extrapulmonares da doença (Gunes *et al.*, 2015).

Portanto, como o pulmão é o primeiro órgão a ser atingido pelos bacilos, além de possibilitar condições ideais para o seu crescimento, em 90% das vezes a infecção aí se localiza. Esse processo infeccioso evolui com os bacilos que conseguiram passar pelas defesas inespecíficas do trato respiratório. Nos primeiros dias após a infecção, o organismo ainda não desenvolve a resposta imunológica específica importante para o bloqueio da multiplicação celular, chegando a 100.000 bacilos em cada foco de inoculação da infecção ao final de 15 dias (Amaral, Lasunskaja e D'imperio-Lima, 2015). Como a transmissibilidade inter-humana ocorre apenas na forma pulmonar, é importante ressaltar que as formas extrapulmonares não são transmissíveis (Jagielski *et al.*, 2015).

A instalação de uma lesão progressiva está diretamente ligada ao grau da lesão pulmonar que, por sua vez, é proporcional à quantidade do inóculo do bacilo e à virulência da cepa e inversamente proporcional à resistência natural e adquirida do hospedeiro. Neste caso, aproximadamente 5% dos indivíduos infectados pela TB desenvolverão a doença num período de dois a cinco anos e, no restante da população infectada, o bacilo ficará dormente, podendo reativar-se tardiamente conforme as condições de imunidade do próprio hospedeiro (Dirlikov, Raviglione e Scano, 2015). A epidemia pelo HIV favoreceu o aumento de novos casos de TB. Isso ocorreu porque a imunidade na TB é mediada pelo sistema imunológico celular, o qual está comprometido na infecção pelo HIV. Portanto, essa pandemia causa impacto no controle da TB e no aumento da frequência das formas graves, extrapulmonares e disseminadas na manifestação da AIDS (Brunello *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2015). Em virtude das elevadas taxas de morbidade e mortalidade por TB em indivíduos HIV positivos, a detecção, o tratamento e a prevenção da TB tornaram-se prioridades nos programas nacionais de controle da AIDS (Organization., 2009; Peruhype *et al.*, 2014).

2.3 Fisiopatologia e Mecanismos Imunológicos da TB

A lesão típica observada na TB é o granuloma, normalmente apresentando características bastante específicas. No centro da lesão existe uma ou mais células gigantes, circundadas por diversas células epitelióides (Figura 1A e 1B). Na periferia encontram-se inúmeros linfócitos, alguns macrófagos e poucos plasmócitos. Dois ou mais desses granulomas podem fundir-se, originando nódulos bem delimitados e visíveis macroscopicamente, denominados de tubérculos. Frequentemente ocorre uma necrose tecidual de extensão variável no centro do granuloma denominada de caseificação (Figura 1C). Antes da fase de necrose a lesão pode curar-se completamente por resolução, entretanto, uma vez ocorridos os processos de necrose e caseificação, ela cicatriza-se por fibrose, encapsulamento, calcificação e formação de cicatriz (Figura 1D) (Wang *et al.*, 2014; Chandra *et al.*, 2015).

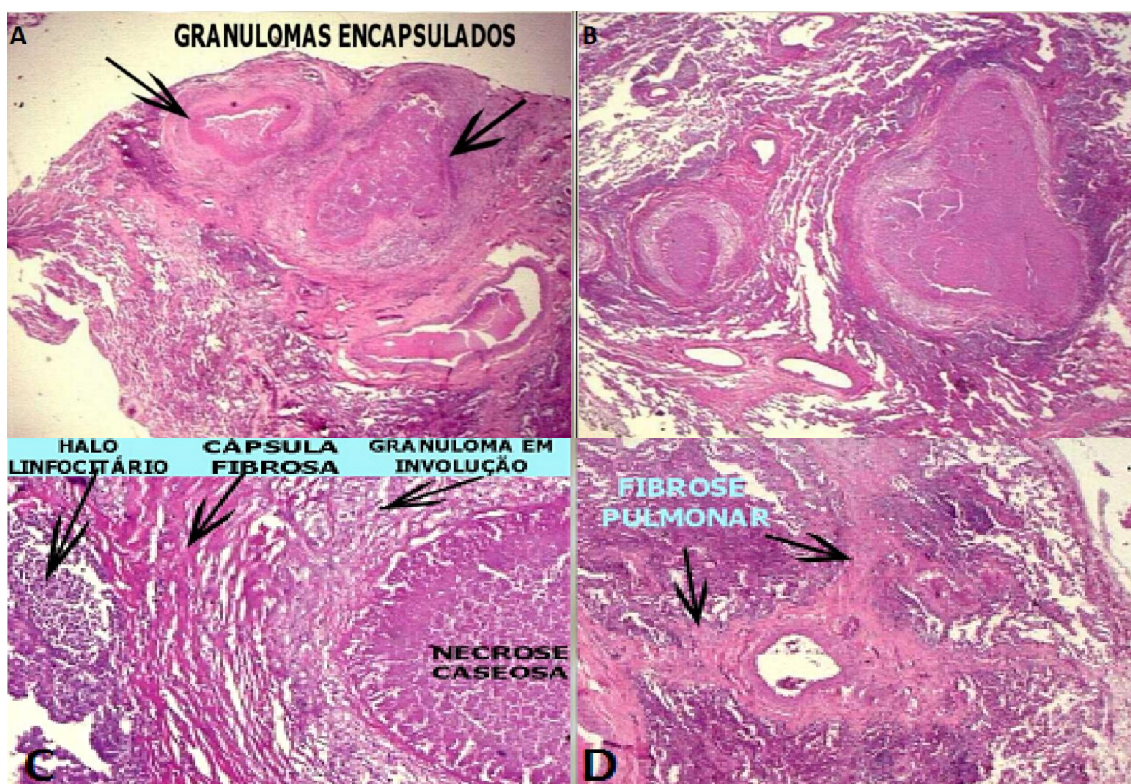


Figura 1 – TB pulmonar produtiva; Granulomas em processo de cura. Site didático de Anatomia Patológica, Neuropatologia e Neuroimagem. UNICAMP, 2015.

A ruptura da lesão ocorre quando o *caseum* amolece e se liquefaz e é expelido através do sistema brônquico. Esse processo resulta na formação de uma cavidade no pulmão. A

disseminação da doença pode ocorrer por extensão local (por via intrabrônquica) ou através da via linfo-hematogênica. As reações são frequentemente acompanhadas por fibrose extensiva e as lesões podem ser vistas em radiografias torácicas de pacientes afetados (Rom e Garay, 2004; Aguilar *et al.*, 2005).

A TB é um exemplo clássico de doença causada por parasita intracelular. Embora seus mecanismos imunopatogênicos ainda não estejam totalmente esclarecidos, sabe-se que proteção imunológica é assegurada pelos mecanismos de imunidade celular, em vez daqueles associados a anticorpos.

O controle imunológico dessa infecção é baseado na resposta imune celular, mediada predominantemente por linfócitos CD4 Th1. A produção de interleucinas (IL-12) por macrófagos e células dendríticas é induzida após a fagocitose do bacilo por essas células e direciona o desenvolvimento da resposta Th1 com produção de interferon (IFN)-gama, que é a citocina crucial para o controle da infecção (Allen *et al.*, 2015; Rao *et al.*, 2015). A função principal do IFN- gama é ativar o macrófago infectado e assim induzir que essa célula exerça seu papel microbicida pela ativação da produção de reativos de oxigênio e de nitrogênio, necessários para a eliminação do bacilo. Além disso, o IFN-gama estimula o macrófago a liberar TNF- α , citocina importante para a formação do granuloma e para o controle da infecção, a resposta Th2 está relacionada a produção de citocinas TH2 (IL-4, 5 e 13, principalmente) que estão ligadas ao adoecimento por tuberculose e as IL-12 e 18 que regularizam o fenótipo da resposta imune para o braço Th1, favorecendo o hospedeiro (Amaral, Lasunskiaia e D'imperio-Lima, 2015; Lerner, Borel e Gutierrez, 2015).

A probabilidade de o indivíduo vir a ser infectado e de que essa infecção evolua para a doença depende de múltiplas causas como a virulência da cepa, da fonte infectante, das características genéticas dos indivíduos infectados, da imunidade inata e adquirida do paciente. A evolução é influenciada pela condição da infecção, se primo-infecção ou reinfecção exógena. Em novo contato, após uma infecção natural ou induzida pelo Bacilo Calmette-Guérin (BCG), a evolução para a doença é também dependente da resposta imunológica individual (Lerner, Borel e Gutierrez, 2015).

São fatores de risco para a doença os extremos etários (infância e velhice), desnutrição, exposição maciça ao micro-organismo, presença de silicose, alcoolismo, uso de drogas endovenosas, uso de medicamentos imunossupressores, além de doenças como diabetes, neoplasias e AIDS (Hill *et al.*, 2005; Lannoy *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2015). Todos os grupos etários são atingidos, embora cerca de 85% dos casos ocorram em adultos na sua fase

de maior produtividade econômica e 90% em sua forma pulmonar. O bacilo tem capacidade de permanecer em estado de latência fisiológica durante longo tempo, assumindo uma condição de parasitismo intracelular. No entanto, a coinfeção TB/HIV altera significativamente este número aumentando os casos de doença por TB e HIV, pois ambas estão relacionadas com o sistema imune celular prejudicando o curso de suas infecções. De cada 100 pessoas que se infectam com o bacilo, 10 a 20 adoecerão. Cepas resistentes a antibióticos são responsáveis por vários surtos da doença, principalmente em ambiente hospitalar, resultando em altas taxas de infecção em trabalhadores da área de saúde e produção (Mulu *et al.*, 2015).

Apesar de grande parte da população mundial ter sido infectada pelo bacilo, uma parcela relativamente pequena desenvolve a doença. Cerca de 90% dos indivíduos infectados desenvolvem a forma latente e assintomática da infecção. Dez por cento das pessoas infectadas apresentam reativação da infecção podendo desenvolver TB ativa, geralmente como consequência de uma infecção secundária, desnutrição, imunossupressão, consumo alcoólico, condições sanitárias precárias ou elevado grau de exposição ao agente etiológico. Em cerca de 5 a 10% dos casos a infecção progride imediatamente após a infecção primária (Patra *et al.*, 2013).

2.4 Transmissão

Apesar de ser conhecida desde a antiguidade, a transmissão da TB foi evidenciada apenas em 1865 por Villemin, que inoculou em animais de laboratório material clínico extraído de bovinos e pessoas doentes. Somente com os magistrais trabalhos de Robert Koch, em 1892, foi definitivamente relacionada a etiologia da doença à micobactéria, hoje denominada *Mycobacterium tuberculosis* (tipo humano) (Migliori *et al.*, 2007). Posteriormente, dois outros tipos foram caracterizados, o tipo bovino (*M. bovis*) e o aviário (*M. avium*). A ingestão deixou de ser uma via comum de infecção, embora na época do leite não-pasteurizado e da TB disseminada no gado essa fosse uma via comum de infecção por *M. bovis* (Finkbeiner, 1996). Apesar de ser uma doença infectocontagiosa, a difusão da TB é grandemente influenciada pelas condições econômicas e sociais da população. Prolifera em áreas de grande concentração humana, com precários serviços de infraestrutura urbana, onde coexistem a fome e a miséria. Por esses motivos, a sua incidência é maior nas periferias das

grandes cidades, podendo, no entanto, acometer qualquer pessoa mesmo em áreas rurais (Brasil, 2014).

A infecção pelo bacilo da TB pode ocorrer em qualquer idade. A fonte de infecção primária é o indivíduo com a forma pulmonar da doença, eliminando bacilos para o exterior. Calcula-se que durante um ano, em uma comunidade, uma fonte de infecção bacilífera poderá infectar, em média, de 10 a 15 pessoas que com ela tenham mantido contato. O risco de contágio entre contactantes é de 2% e de contactantes casuais praticamente nula (Getahun *et al.*, 2015).

A fala, o espirro e, principalmente, a tosse de um doente de TB pulmonar bacilífera lançam no ar gotículas contaminadas de tamanhos variados. As gotículas mais pesadas se depositam rapidamente e as mais leves permanecem no ar em suspensão. Somente o núcleo seco das gotículas - denominado de núcleo de Wells – com diâmetro menor que 5 µm e contendo de 1 a 3 bacilos consegue atingir os bronquíolos, onde inicia sua multiplicação. Um paciente bacilífero produz, em média, 250 núcleos de Wells por hora. Estima-se que seja necessária uma exposição a cerca de 25.000 núcleos de Wells – aproximadamente 100 horas, portanto – para que o contágio ocorra (Kritski, 2010a).

As gotículas médias são, na maioria, retidas pela mucosa do trato respiratório superior e removidas dos brônquios através do mecanismo mucociliar. Os bacilos assim removidos são deglutidos, inativados pelo suco gástrico e eliminados nas fezes. Os bacilos que se depositam nas roupas, lençóis, copos e outros objetos dificilmente se dispersarão em aerossóis e, por isso, não desempenham papel importante na transmissão (Kritski, 2010a). Quatro fatores determinam a probabilidade da transmissão de *M. tuberculosis*: 1) número de bacilos expelidos no ar; 2) concentração de organismos no ar, influenciada pelo espaço e ventilação; 3) tempo de exposição do indivíduo no ambiente contaminado; e 4) estado imunológico do indivíduo exposto à contaminação (Lönnroth *et al.*, 2009).

O período de transmissibilidade se estende enquanto o doente estiver eliminando bacilos sendo a transmissão reduzida gradativamente em aproximadamente 15 dias (Uys, Warren e Van Helden, 2007).

2.5 O Micro-organismo e o Complexo *Mycobacterium tuberculosis*

Em 1896, Lehmann e Neumann propuseram a criação do gênero *Mycobacterium* visando à inclusão dos bacilos da TB e da hanseníase, até então classificados como *Bacterium*

tuberculosis e *Bacterium leprae* (Drobniewski *et al.*, 1997; Goodfellow *et al.*, 1997). Esse gênero tem sofrido atualizações constantes e a ele pertencem 142 espécies e 11 subespécies. Faz parte da família Mycobacteriaceae, juntamente com o gênero *Amycolicococcus*, e está posicionado taxonomicamente na sub-ordem Corynebacterineae, que pertence à ordem Actinomycetales, da subclasse Actinobacteridae, da classe e do filo Actinobacteria, do domínio Bacteria. Essa taxonomia baseia-se em três critérios: resistência à descoloração por álcool-ácido, síntese de ácidos micólicos e porcentagem de citosina e guanina (C+G) do DNA genômico compreendida entre 61mol% e 71mol% (Wright *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2014). O gênero *Mycobacterium* é constituído pelo *M. leprae*, por espécies que compõem o CMTB e outras micobactérias denominadas micobactérias não tuberculosas (MNT) (Gutierrez, Supply e Brosch *et al.*, 2009; Smith *et al.*, 2009).

As micobactérias foram classificadas por Kazda, conforme a patogenicidade em seres humanos, em três grupos: estritamente patogênicas, potencialmente patogênicas e raramente patogênicas ou saprófitas (Quadro 1). As espécies estritamente patogênicas incluem as do CMTB e *M. leprae*, enquanto as classificadas como potencialmente patogênicas e patógenos raros compreendem as MNT (Brasil, 2009).

Quadro 1. Classificação da patogenicidade das espécies de micobactérias

Patogênicas				
<i>M. leprae</i>	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M. africanum</i>	<i>M. microti</i>
<i>M. caprae</i>				
Potencialmente patogênicas				
<i>M. avium</i>	<i>M. branderi</i>	<i>M. genavense</i>	<i>M. malmoense</i>	<i>M. simiae</i>
<i>M. avium subsp</i>	<i>M. celatum</i>	<i>M. haemophilum</i>	<i>M. marinum</i>	<i>M. szulgai</i>
<i>Paratuberculosis</i>				
<i>M. abscessus</i>	<i>M. chelonae</i>	<i>M. intracellulare</i>	<i>M. peregrinum</i>	<i>M. ulcerans</i>
<i>M. asiaticum</i>	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. kansasii</i>	<i>M. scrofulaceum</i>	<i>M. xenopi</i>
Raramente patogênicas				
<i>M. agri</i>	<i>M. fallax</i>	<i>M. cooki</i>	<i>M. gordonae</i>	<i>M. phlei</i>
<i>M. alchiense</i>	<i>M. hassiacum</i>	<i>M. diernhoferi</i>	<i>M. porcinum</i>	<i>M. thermoresistibile</i>
<i>M. alvei</i>	<i>M. duvalii</i>	<i>M. komossense</i>	<i>M. pulveris</i>	<i>M. tokaiense</i>
<i>M. aurum</i>	<i>M. fallax</i>	<i>M. lepraemurium</i>	<i>M. rhodesiae</i>	<i>M. triviale</i>
<i>M. brumae</i>	<i>M. farcinogenes</i>	<i>M. mucogenicum</i>	<i>M. senegalense</i>	<i>M. vaccae</i>
<i>M. austroafricanum</i>	<i>M. flavescens</i>	<i>M. nonchromogenicum</i>	<i>M. shimoidei</i>	<i>M. chitae</i>
<i>M. gadium</i>	<i>M. neoaurum</i>	<i>M. smegmatis</i>	<i>M. chubuense</i>	<i>M. gastris</i>
<i>M. obuense</i>	<i>M. sphagni</i>	<i>M. confluentis</i>	<i>M. gilvum</i>	

Fonte: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota técnica conjunta Nº 01/2009.

O CMTB inclui as seguintes espécies: *M. tuberculosis*, responsável pela maioria dos casos de TB humana; *M. bovis*, causador da doença em gado bovino, eventualmente podendo acometer outros animais, é considerada uma zoonose que acomete mais comumente amígdalas, gânglios e intestino. Quando causa doença pulmonar em humanos, *M. bovis* não é transmissível facilmente, razão pela qual há uma tendência pelo seu desaparecimento em infecção em seres humanos (Marais *et al.*, 2010). A cepa atenuada *M. bovis* BCG é utilizada para vacinação; *M. africanum*, um grupo heterogêneo de isolados responsáveis por TB humana na África (Metchock, Nolte e Wallace, 1999); *M. microti*, um patógeno isolado com pouca frequência, causador da doença em imunocomprometidos (Van Soolingen *et al.*, 1998); *M. pinnipedii*, isolado em animais marinhos (Cousins *et al.*, 2003); e as subespécies recentemente identificadas *M. tuberculosis* subsp. *caprae*, encontrada principalmente em caprinos (Aranaz *et al.*, 1999) e *M. tuberculosis* subsp. *canetti*, isolada na África e na Europa (Miltgen *et al.*, 2002).

As espécies anteriormente descritas apresentam 99,9% de identidade genética, portanto estão incluídas em um mesmo complexo. Essa semelhança genotípica pode ser identificada pela hibridização do DNA que evidencia os seus elementos comuns, como a sequência 16S, a inserção IS6110 e uma sequência de bases repetitivas de DR (*direct repeated*). No entanto, apresenta diferenças quanto a reservatórios naturais, patogenicidade e características fenotípicas e epidemiológicas, como a transmissibilidade (Niemann, Richter e Rusch-Gerdes, 2000; Gutierrez, Supply e Brosch *et al.*, 2009; Smith *et al.*, 2009).

O *Mycobacterium tuberculosis* é uma forma de transição evolutiva entre as eubactérias e os actinomicetos. É um bacilo com 1 a 4 µm de comprimento por 0,3 a 0,6 µm de largura, não formador de esporos ou produtor de toxina, sem flagelos, espécie aeróbica estrita e intracelular facultativo, sendo capaz de sobreviver e de se multiplicar no interior de células fagocitárias (Smith *et al.*, 2009).

2.6 Diagnóstico

O diagnóstico da TB pode ser obtido por meio de vários métodos, tais como histórico clínico, exame radiológico, testes imunológicos, baciloscopia, cultivo e técnicas de identificação molecular.

2.6.1 História clínica

Para a forma pulmonar da doença, dependendo de sua evolução, pode ser assintomática ou manifestar-se clinicamente com tosse, febre, perda de peso, sudorese noturna e inapetência. A temperatura corporal apresenta variação ao longo do dia, apresentando-se baixa ou normal durante a manhã, aumentando gradativamente até o final da tarde. À noite, a temperatura volta ao normal, sendo acompanhada de sudorese. A tosse está presente na maioria dos casos, sendo inicialmente seca e, com a progressão da doença, evoluindo para uma expectoração purulenta. Não raro, o escarro pode estar acompanhado de sangue, o que evidencia um comprometimento de vasos pulmonares. O volume de sangramento é variável e não indica necessariamente TB ativa (Rom e Garay, 2004). A tosse com expectoração por mais de três semanas é um sinal importante e caracteriza o paciente como sintomático respiratório (Brasil, 2015a).

2.6.2 Exame radiológico

O exame radiológico é auxiliar no diagnóstico da TB, justificando sua utilização nos indivíduos sintomáticos respiratórios, nos suspeitos de serem portadores de TB extrapulmonar, nos portadores de infecção pelo HIV e nos contactantes (intradomiciliar ou extradomiciliar) de pacientes com TB pulmonar (Kritski, 2010b). A maioria dos pacientes com TB pulmonar ativa apresenta alterações radiográficas sugestivas. Na TB primária, o processo infeccioso recente é visto geralmente como um infiltrado no lobo médio ou inferior do pulmão (McGuinness, Hamilton e Al Nabulsi, 2000). A imagem radiográfica sugestiva é o aspecto bipolar, de aumento hilar em decorrência da hipertrofia dos linfonodos regionais. A principal alteração parenquimatosa é representada por uma opacidade com limites mal definidos, frequentemente associada com adenopatia hilar ipsi-lateral. Raramente os linfonodos aumentados podem comprimir os brônquios, dando origem a atelectasias. Com a progressão da doença, imagens cavitárias podem surgir, indicando uma forma mais grave (Rom e Garay, 2004)). As lesões podem regredir espontaneamente, resultando em sequelas como alterações parenquimatosas calcificadas ou não (Rom e Garay, 2004).

O exame radiológico permite a identificação de pessoas portadoras de imagens sugestivas de TB ou de outras patologias e permite, em pacientes com baciloscopia positiva, a exclusão de outra doença pulmonar associada que necessite de tratamento concomitante, além

de avaliar a evolução radiológica dos pacientes, sobretudo naqueles que não responderam à quimioterapia (Mcguinness, Hamilton e Al Nabulsi, 2000).

2.6.3 Testes imunológicos

O teste imunológico mais utilizado em todo mundo é o teste tuberculínico, identifica se uma pessoa foi infectada pelo bacilo da TB. A tuberculina é constituída por uma mistura purificada por fracionamento químico (derivado protéico purificado) de componentes solúveis de *M. tuberculosis* ativamente produzidos durante crescimento em meio líquido. O derivado protéico purificado (PPD), apesar de ser denominado purificado, na verdade é uma mistura bruta de mais de duzentos antígenos protéicos e polissacarídeos obtidos a partir do filtrado de culturas de *M. tuberculosis* (Lalvani *et al.*, 1998). A injeção intradérmica desse derivado é conhecida como prova tuberculínica, ou teste de Mantoux, sendo indicada como método auxiliar no diagnóstico da TB. Há várias classes de testes para a prova intradérmica, sendo o mais utilizado o método de Mantoux PPD. O teste é realizado injetando-se 0,1 mL de antígeno PPD (equivalente a 2 unidades de tuberculina) por via intradérmica no terço médio da face anterior do antebraço do paciente. A reação de hipersensibilidade de natureza tardia se manifesta três ou quatro dias após a infecção. A leitura do halo de endurecimento formado ao redor da aplicação, após esse período, indica se o indivíduo foi ou não infectado pelo bacilo (BRASIL, 2010).

A resposta primária de um organismo infectado é desenvolver reação de hipersensibilidade do tipo tardia às proteínas de baixo peso molecular secretadas pelo bacilo, e como consequência apresentar reação positiva à tuberculina. Um resultado positivo indica, isoladamente, apenas infecção e não necessariamente TB doença (Casal *et al.*, 2015). A prova tuberculínica é baseada nos fenômenos de hipersensibilidade do tipo tardia (HTT). Quando proteínas estranhas, fragmentos protéicos ou o próprio bacilo da TB são previamente introduzidos no organismo hospedeiro, macrófagos são ativados por mediadores solúveis (citocinas) secretados por linfócitos T antígenos-específicos resultando em uma resposta imune altamente sensível e um quadro de elevada sensibilidade na infecção subsequente. A infiltração de linfócitos e macrófagos no local de injeção produz uma área de endurecimento e tumefação ao redor da aplicação, sendo dimensionada com auxílio de régua milimetrada (Huebner, Schein e Bass, 1993; Ranaivomanana *et al.*, 2015).

Representa um método auxiliar para o diagnóstico de pacientes não-imunizados com BCG. Quando negativo, sugere a investigação de outras doenças que possam ter apresentação semelhante à tuberculose. Quando positivo, indica contato atual ou progresso com a micobactéria, necessitando de outros achados que confirmem a infecção. Na maioria dos casos o teste tuberculínico é usado com o objetivo de diagnosticar TB latente em indivíduos com risco de infecção e com o objetivo de tratar, se o teste for positivo. Deve ser efetuado apenas naqueles indivíduos que têm maior risco de estar realmente infectado; por exemplo: contatos recentes de doentes com tuberculose bacilífera (Brasil, 2010).

O teste de intradermorreação utilizando o PPD não é mais o único método imunológico atualmente disponível para avaliar populações em risco de infecção pelo *M. tuberculosis*. Um dos últimos avanços científicos permitiu a identificação de proteínas (ESAT-6 e CFP10) codificadas na região RD1 do genoma do CMTB. Nos indivíduos com tuberculose latente, as células T produzem interferon- γ em resposta aos antígenos do CMTB. Os novos testes envolvem a estimulação de linfócitos sanguíneos com ESAT-6 ou CFP10, seguido de medição/detecção do interferon- γ produzido. A tuberculose ativa está associada a menor produção de interferon- γ , parecendo relacionar-se com a gravidade da doença e tempo de tratamento. No entanto, a sensibilidade ou a especificidade deste teste tem os mesmos problemas do teste tuberculínico – falta um teste padrão-ouro de diagnóstico de tuberculose latente (Duarte, 2009)

2.6.4 Baciloscopia

O método de diagnóstico mais usado ainda é a pesquisa do bacilo no escarro, nos casos de TB pulmonar, iniciada por Robert Koch em 1882 e até hoje amplamente empregada pela simplicidade de realização. Todavia, apresenta baixo rendimento pois, em geral, a positividade do bacilo álcool-ácido resistente (BAAR) é confirmada se houver mais de cinco mil bacilos/mm³ do material coletado, uma vez que as micobactérias não se coram facilmente através de métodos convencionais (como a coloração de Gram) pela alta quantidade de lipídios presentes na parede celular.

Dois tipos de colorações são realizadas normalmente:

- 1- coloração de carbolfucsina (mistura de fucsina com fenol); que incluem as colorações de: a- Ziehl-Neelsen (coloração a quente) b- Kinyoun (coloração a frio) c- Ziehl-Gabbet (coloração a frio)

2- coloração de fluorocromos: auramina O.

Os métodos se baseiam na propriedade dos bacilos serem álcool-ácido resistentes, ou seja, depois de tingidos pela fucsina básica (ou pelo fluorocromo), mantêm coloração avermelhada ou rósea mesmo após serem submetidos à ação de solução de álcool e ácidos fortes para descoloração (Figura 2).



Figura 2 Micobactéria corada pela técnica de Ziehl-Neelsen observada no aumento de 1000 x. Atlas colorido e livro texto de microbiologia. Konemann, 2006.

A baciloscopia é um exame semiquantitativo, com a contagem do número de BAAR por campo microscópico (Kritski, Conde e de Souza, 2000).

Os critérios para leitura e interpretação dos resultados da baciloscopia preconizado pelo Ministério da Saúde são descritos no Quadro 2.

Quadro 2 Critérios para leitura e interpretação dos resultados da baciloscopia de escarro, após concentração ou não, corada pelo método de Ziehl-Neelsen.

Não são encontrados BAAR em nenhum dos 100 campos	Relata-se o resultado como NEGATIVO
São encontrados de 1 a 9 BAAR em 100 campos	Relata-se apenas a quantidade de BAAR encontrada;
São encontrados de 10 a 99 BAAR, em 100 campos	Relata-se o resultado como POSITIVO +
É encontrada uma média de 1 a 10 BAAR por campo, nos primeiros 50 campos observados	Relata-se o resultado como POSITIVO ++
São encontrados em média mais de 10 BAAR por campo, nos primeiros 20 campos observados	Relata-se o resultado como POSITIVO +++

Fonte: Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da TB e outras Micobactérias. Ministério da Saúde. Brasília, 2008.

Em casos de TB pulmonar, a sensibilidade da baciloscopia varia entre 33% e 80% (Goessens *et al.*, 2005, Peterson *et al.*, 1999; Lipsky *et al.*, 1984). Embora menos sensível que a cultura, necessitando de 5000 bacilos por mL de escarro para sua positividade, a baciloscopia permite a detecção de micobactérias e possibilita ao clínico direcionar os procedimentos necessários, ainda que não possibilite a diferenciação entre espécies. A coloração deve ser realizada em todos os materiais de cultura suspeitos de conter micobactérias (Metchock, Nolte e Wallace, 1999).

2.6.5 Cultura

Apesar de mais trabalhosa e morosa quanto à obtenção de resultado, a cultura do micro-organismo é um método mais sensível que a baciloscopia, necessitando de apenas 10 a 100 bacilos viáveis por mL de espécime clínico para apresentar resultados positivos (Palomino, 2005). A sensibilidade da cultura varia entre 80% e 85% (Stager *et al.*, 1991; Morgan *et al.*, 1983) e sua especificidade é de 98% (SCHIRM *et al.*, 1995). Pelo lento crescimento bacilar, as culturas são passíveis de leitura somente após três a seis semanas de inoculação em meios sólidos. É um complemento da baciloscopia, permitindo o diagnóstico

não apenas dos casos avançados, intensamente bacilíferos, como também dos casos mais recentes em que há discreta eliminação bacilar (Brasil, 2015a).

O procedimento de cultura utiliza meios solidificados que podem ser divididos em meios à base de ovo ou de agar. O meio de cultura mais utilizado para isolamento de micobactérias é o Löwenstein-Jensen (LJ), à base de ovo, contendo glicerol como fonte de carbono e asparagina como fonte de nitrogênio. Esse é o meio padronizado pelo Ministério da Saúde (MS) do Brasil para uso em laboratórios de referência e permite o crescimento da maioria das micobactérias de interesse médico (Brasil, 2015a). O meio de cultura de Ogawa-Kudoh também a base de ovo é preconizado para ser usado nos laboratórios regionais e locais e ou com dificuldade de acesso como aldeias indígenas, o qual facilita o processo de descentralização. Esse método é econômico e suficientemente sensível para assegurar que a cultura contribua para confirmar o diagnóstico da tuberculose pulmonar, nos casos com baciloscopia negativa e útil para recuperar os bacilos de escarros de pacientes bacilíferos que requerem teste de sensibilidade. Gera risco biológico similar ao da baciloscopia pois não requer centrifugação de suspensões com bacilos. Os meios à base de agar são meios transparentes, o que permite a visualização precoce das colônias em lupas ou microscópio. Os meios Middlebrook à base de agar (Middlebrook 7H10 e Middlebrook 7H11) devem ser enriquecidos com o suplemento Middlebrook OADC, composto por ácido oleico, albumina bovina (fração V), dextrose e catalase.

O meio de cultura líquido Middlebrook 7H9 é o meio líquido que necessita do enriquecimento ADC (albumina, dextrose e catalase) é comumente utilizado no subcultivo para estocagem de cepas. Há também o meio líquido Middlebrook 7H9 modificado, acrescido de antibióticos e enriquecimento OADC (ácido oleico, albumina, dextrose e catalase), acondicionado em um tubo contendo um sensor fluorescente sensível ao oxigênio, composto de rutênio pentahidratado em uma base de silicone. É o meio escolhido para o preparo do inóculo para testes de resistência e outros ensaios in vitro, sendo utilizado para a recuperação de micobactérias presentes em baixa contagem em materiais como o líquor é o meio utilizado pelo BACTEC MGIT 960® (Metchock, Nolte e Wallace, 1999).

A mais recente ferramenta para o diagnóstico da TB no Brasil, implantada pelo Ministério da Saúde em 2014 foi o Genexpert. O teste Xpert MTB/Rif realizado no sistema GeneXpert é um teste molecular rápido para a detecção de CMTB e resistência à R, com tecnologia avançada e para uso na rede primária de saúde, nas unidades que disponham de um laboratório que realize baciloscopias. O sistema GeneXpert é formado por um instrumento

GeneXpert, um computador simples e cartuchos descartáveis. O teste é baseado na metodologia PCR (polimerase chain reaction - reação da polimerase em cadeia) multiplex, nested, em tempo real. Uma série de sondas moleculares é utilizada simultaneamente para detectar a presença de CMTB e para diagnosticar a resistência à R como um marcador alternativo de doença multirresistente.

2.7 Profilaxia

De acordo com MS, existem duas medidas preventivas eficazes contra a TB: a quimioprofilaxia e a vacinação. A quimioprofilaxia TB consiste na administração de H em pessoas não infectadas pelo *Mycobacterium tuberculosis* para prevenir a infecção (quimioprofilaxia primária) ou para evitar o desenvolvimento da doença nos indivíduos infectados (quimioprofilaxia secundária). A H vem sendo utilizada nos EUA desde 1952 para o tratamento da TB, e foi introduzida no Brasil nesse mesmo ano. A partir de 1965, a American Thoracic Society (ATS) recomendou seu uso na quimioprofilaxia da tuberculose nos indivíduos reatores à tuberculina. No entanto, apesar de eficaz para prevenir o desenvolvimento da doença TB sua toxicidade deve ser monitorada (Ranaivomanana *et al.*, 2015). Recomenda-se que todo indivíduo com infecção pelo HIV, independentemente da idade, sem evidência de tuberculose doença, com um teste positivo à tuberculina (> 5 mm), sem antecedente de tratamento de tuberculose e com radiografia de tórax normal, deve receber tratamento para a infecção latente por *M. tuberculosis*. Nos indivíduos negativos para o teste da tuberculina a eficácia desta terapia não tem sido bem demonstrada. Alguns ensaios clínicos neste grupo evidenciaram que o benefício da utilização da terapia preventiva com H não foi importante. É possível que dificuldades na absorção dos fármacos e a imunossupressão avançada nestes sujeitos interfiram na eficácia da terapia. No entanto recomenda-se a H por doze meses nos pacientes que sendo HIV positivos, sem PPD positivo documentado, mas em contato recente com caso de tuberculose pulmonar infecciosa (Akilimali, *et al.*, 2015).

A vacina BCG, que foi desenvolvida por Albert Calmette e Camille Guérin no Instituto Pasteur na França entre 1906 e 1919 (Chung e Biggers, 2001), é obtida a partir de uma cepa virulenta de *M. bovis* que foi atenuada após múltiplos cultivos por vários anos. A vacinação com a BCG é a medida mais comum para prevenção da TB, pois visa proteger as crianças não infectadas de adoecerem caso venham a se infectar com o bacilo da TB. É indicada para crianças de até 4 anos de idade e a proteção imunitária pode manter-se por 10 a

15 anos (Behr, 2001). A vacina BCG foi trazida para o Brasil em 1927 por Arlindo de Assis, que recebeu uma estirpe-filha da BCG trazida por Moreau, a qual passou a ser denominada BCG Moreau - Rio de Janeiro (Behr, 2001). Entre 1948 e 1974, estima-se que foram vacinadas 1,5 bilhão de pessoas (WHO, 2005). Em 1974, a vacinação com BCG foi incorporada ao Programa Ampliado de Vacinação (PAI/OMS). Atualmente, a cobertura vacinal da BCG alcança 85% dos recém-nascidos no Brasil. Estima-se que aproximadamente 100 milhões de crianças recebam a vacina BCG a cada ano em todo o mundo.

O Programa Nacional de Controle da TB (PNCT) é responsável pelas normas de prevenção, ou seja, vacinação, redução das fontes de infecção, diagnóstico, tratamento e pela distribuição dos medicamentos que são fornecidos gratuitamente a todos os doentes registrados e acompanhados nas Unidades de Saúde, levando à consequente redução da incidência, prevalência e mortalidade causada pela TB (Hijjar *et al.*, 2005). No entanto vários estudos têm demonstrado controvérsias na proteção da BCG para o bacilo da TB, ficando mais evidente apenas para as formas graves e na infância o que mesmo assim ainda necessita de mais estudos (Ranaivomanana *et al.*, 2015).

2.8 Tratamento

Diagnosticar precocemente um doente com tuberculose, principalmente o bacilífero, e tratá-lo de forma adequada é essencial para eliminação da principal fonte de infecção. A redução dessas fontes de infecção interrompe a cadeia de transmissão da doença e diminui o problema da TB na comunidade. Dessa forma, a transmissão é reduzida gradativamente após o início do esquema terapêutico recomendado e ao fim de poucas semanas o risco de transmissão diminui significativamente (Costa *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014). A carga bacilífera diminui para 5% no segundo dia de tratamento e para 0,5% após o décimo segundo dia de terapia (Atif *et al.*, 2015). Consideram-se, para fim de tratamento, indivíduos que apresentem as seguintes características: material clínico positivo ao exame direto; cultura de material clínico positiva; adultos sintomáticos, negativos persistentes à baciloscopia mas com suspeita radiológica de TB pulmonar; crianças doentes mesmo sem confirmação bacteriológica; não vacinados com BCG intradérmico e com histórico de contágio conhecido; reatores fortemente positivos pela intradermorreação à tuberculina (Brasil, 2011).

A era da quimioterapia da TB inicia-se no final da década de 1940 com a descoberta da estreptomicina, utilizada em monoterapia, conforme os primeiros trabalhos publicados pelo

Conselho Médico Britânico. A constatação do rápido desenvolvimento de resistência à estreptomicina levou à descoberta e a testes de novos fármacos, como ácido para-aminossalicílico (PAS), H, Z, tiossemicarbazona, cicloserina, canamicina, etionamida (Et), E e capreomicina (Mitchison e Davies, 2012). Os primeiros ensaios já demonstravam a necessidade de uma combinação farmacológica no tratamento como a principal medida para se prevenir a resistência. Como o Complexo *Mycobacterium tuberculosis* é formado por patógenos aeróbios estritos, de multiplicação lenta e alta taxa de mutantes resistentes, para o seu tratamento é recomendada a utilização de poliquimioterapia por tempo prolongado para eliminar os bacilos em todas as suas fases de crescimento metabólico, o que diminui as taxas de recidivas por evitar a resistência intrínseca do bacilo.

Nos anos 1950 surge o primeiro regime poliquimioterápico, composto por estreptomicina (S), PAS e H, administrados por 24 meses. A longa duração e a difícil aceitação do PAS justificaram buscar regimes mais eficazes, mais curtos e mais toleráveis. Na década de 1960, o PAS foi gradualmente substituído pelo E, e o regime tríplice, com Z, H e E, foi encurtado para 12 meses (Caminero, 2004; Aguilar *et al.*, 2005; Mitchison e Davies, 2012). A R foi introduzida na terapêutica em 1971 e é um marco no tratamento da TB por sua potente atividade esterilizante, tanto na fase de multiplicação rápida quanto na fase de manutenção. Sua incorporação aos esquemas possibilitou a redução do tempo de tratamento de 12 para 6 meses, com a chamada curta duração (Caminero, 2004; Mitchison e Davies, 2012).

Portanto, desde 1979 o tratamento para TB no Brasil assim se compôs: esquema I: dois meses (2RHZ) e quatro meses (4RH), para pacientes novos; esquema IR (2RHZE/4RH), para pacientes após cura ou abandono; esquema II (2RHZE/7RH), para meningoencefalite; esquema III (3SEEtZ/9EEt), para falência dos esquemas anteriores; e esquema específico para MDR-TB. Os fármacos recomendados atuam, portanto, em diferentes etapas do metabolismo do bacilo.

A R é um fármaco pertencente à classe dos antibióticos macrolídeos que possui ação bactericida. Seu mecanismo de ação consiste na inibição da transcrição gênica da micobactéria por bloqueio da RNA polimerase DNA dependente, impedindo a síntese de RNA mensageiro (RNAm) e de proteína pelo bacilo, causando a morte celular (Arbex *et al.*, 2010; Tupin *et al.*, 2010).

A H, por sua vez, é um antibiótico sintético notavelmente seletivo para micobactérias. Trata-se de um pró-fármaco que necessita ser ativado pela enzima catalase peroxidase do *M.*

tuberculosis, produzindo radicais reativos de oxigênio e radicais orgânicos que inibem a formação de ácido micólico da parede celular, causando erros na síntese do DNA que levam à morte do micro-organismo (Arbex *et al.*, 2010).

Já a Z, para se tornar ativa, necessita ser convertida em ácido pirazinóico por enzimas bacterianas. No entanto, seu mecanismo de ação ainda é pouco conhecido. Supõe-se que a Z penetre no bacilo de forma passiva e atinja altas concentrações no citoplasma bacteriano. O acúmulo de ácido pirazinóico diminui o potencial hidrogeniônico (pH) intracelular, causando inativação de enzimas como a ácido graxo sintase I (que é essencial para a síntese dos ácidos graxos) prejudicando então a biossíntese do ácido micólico (Arbex *et al.*, 2010).

Finalmente, o E atua inibindo a enzima arabinosil transferase codificada pelo gene *embB* e conseqüentemente interfere na biossíntese de arabinogalactano, principal polissacarídeo da parede celular da micobactéria (Arbex *et al.*, 2010).

Em 2009, seguindo recomendações do Comitê Técnico Assessor do PNCT, foi efetuada uma substantiva revisão nas formas de tratamento da TB (Brasil, 2011). As principais modificações adotadas foram as seguintes:

- Introdução de um quarto fármaco, E, na fase intensiva do tratamento para todas as formas e idades a partir dos 10 anos (2RHZE/4RH);
- Adoção da apresentação em comprimidos com doses fixas combinadas: 4 em 1 (RHZE) para a fase intensiva e 2 em 1 (RH) para a fase de manutenção.
- Formulações em comprimidos em substituição às cápsulas;
- Adequação das doses de H e Z para 300 mg/dia e 1.600 mg/dia, respectivamente
- Abolição dos esquemas de retratamento denominados IR e III.

Assim, os esquemas atualmente preconizados são indicados para todos os casos novos e para formas de TB pulmonar e extrapulmonar (exceto meningoencefalite), bem como nos casos de recidiva e retorno após abandono (Quadro 3). Para os menores de 10 anos, permanece o esquema anterior (RHZ).

Quadro 3 Esquema básico para tratamento de TB no Brasil à partir de 2010.

Esquema	Fármacos	Peso	Dose	Meses
2RHZE Fase intensiva	RHZE*	Até 20Kg 20-35Kg 36-50Kg >50Kg	R: 10mg/Kg/dia H: 10mg/kg/dia Z:35mg/kg/dia E:25mg/kg/dia 2 comprimidos 3comprimidos 4 comprimidos	2
4RH Fase de manutenção	RH	Até 20 Kg 20-35Kg 36-50Kg >50Kg	R: 10mg/Kg/dia H: 10mg/Kg/dia 2 comprimidos 3comprimidos 4 comprimidos	4
O número antecedendo a sigla indica o número de meses de tratamento Dose por comprimido R= 150mg, H= 75mg, Z= 400mg, E= 275mg				

Fonte: Nota técnica sobre as mudanças no tratamento da TB no Brasil para adultos e adolescentes. Supl 1. Brasil, 2011.

A principal justificativa para a introdução do quarto fármaco no esquema básico foi a constatação do aumento, na última década, da resistência primária à H, de 4,4% para 6,0% (II Inquérito Nacional de Resistência, dados não publicados) e de resistência à R (de 0,2% para 1,5%). Seu longo e ininterrupto tempo de uso, de mais de seis décadas no país, revela uma curva histórica e esperada de aumento de resistência à H. A escolha do E tem como justificativa a evidência de que os fármacos R, estreptomicina e E, quando associados à H, mostram maior capacidade de reduzir a falência de tratamento por seleção de cepas resistentes. Assim, o acréscimo do E ao esquema evita o risco de falência e reduz o risco de recidiva em casos de resistência primária à R ou à H (Brasil, 2011; SBPT, 2009).

A combinação RHZE em um mesmo comprimido (dose fixa combinada) na fase intensiva do tratamento é recomendada pela OMS, há mais de década, como estratégia de adesão e operacionalização. As vantagens são minimizar erros de prescrição, diminuir o número de comprimidos, gerar melhor aceitação pelo paciente, facilitar a supervisão e melhorar a logística do controle farmacêutico (Brasil, 2011; WHO, 2008). Para a faixa etária abaixo de 10 anos, permanece o esquema com três fármacos: R (10 mg/kg), H (10 mg/kg) e Z (35 mg/kg). Embora aceito pela OMS, a justificativa para não introduzir o E no Brasil em crianças foi a dificuldade de se identificar precocemente a neurite óptica nesse grupo, e de não

existir formulações pediátricas de RHZE em doses combinadas até o momento (Dalcolmo, 2012).

Apesar da combinação RHZE em um mesmo comprimido ser uma recomendação com mais de 20 anos, ainda pairam algumas dúvidas com relação à biodisponibilidade da R nessas combinações. A provável redução dessa biodisponibilidade em combinações fixas já foi relatada e sua implicação no controle da TB é desastrosa (Sbarbaro, Blomberg e Chaulet, 1999), pois acarretaria um aumento das taxas de falência do tratamento com o esquema de curta duração e aumento da probabilidade de surgimento de mutantes resistentes, tanto à R como à H, com um impacto epidemiológico negativo decorrente do aumento de bacilos resistentes circulantes. Em termos individuais, seria muito prejudicial para o doente por reduzir ou mesmo impossibilitar a cura (Botha *et al.*, 1996). Segundo Sbarbaro (1999), os testes *in vitro* não garantiriam realmente uma biodisponibilidade da R quando utilizada em seres humanos.

Tanto Sbarbaro (1999) quanto Botha (1996) questionaram se o uso de doses fixas combinadas das drogas preveniria o surgimento da resistência se o tratamento fosse interrompido parcial ou totalmente. Esses autores reconhecem a necessidade de protocolos para determinar a biodisponibilidade da R em apresentações combinadas. Apesar da grande eficácia dos esquemas terapêuticos, estudos mostram que os fármacos utilizados podem produzir interações medicamentosas indesejáveis entre si ou com outros medicamentos em uso pelo paciente, assim como reações adversas que podem apresentar diferentes graus de severidade podendo levar ao abandono do tratamento (Blumberg *et al.*, 2003).

Considera-se caso de abandono de tratamento o doente que, após iniciado o tratamento para TB, deixou de comparecer à unidade de saúde por mais de trinta dias consecutivos, após a data aprazada para o seu retorno. Vários fatores relacionados ao tratamento, à doença, ao paciente, aos problemas sociais, aos serviços e ao profissional de saúde são apontados como determinantes do problema, como contribuintes para a não adesão e para o abandono. (Meirelles e Chirinos, 2011).

O abandono do tratamento e o surgimento de cepas resistentes, são fatores que estão associados à ainda elevada incidência global da TB, os quais impõem dificuldades ao processo de cura, aumentando o tempo e o custo do tratamento (WHO, 2015).

2.9 Mecanismo de Resistência aos Tuberculostáticos

O CMTB apresenta alta proporção de mutantes resistentes (Frieden *et al.*, 2009). Dos quatro mecanismos conhecidos responsáveis pela resistência bacteriana (conjugação, transformação, transdução e mutação), o bacilo adquire resistência aos fármacos apenas por mutação (Hillemann, Rusch-Gerdes e Richter, 2007).

As estirpes do CMTB do tipo selvagem são aquelas que nunca estiveram expostas a antibióticos tuberculostáticos. No entanto, dentro dessas estirpes verificou-se a existência de pequenas populações espontaneamente resistentes aos antibióticos (Curry, 2008):

- $3,5 \times 10^{-6}$ são resistentes à H;
- $1,2 \times 10^{-8}$ são resistentes à R;
- $3,1 \times 10^{-5}$ são resistentes ao E;
- $3,8 \times 10^{-6}$ são resistentes à estreptomicina;

Sabendo que numa lesão da cavidade pulmonar pode alojar cerca de 1×10^6 a 1×10^9 bacilos, constata-se que com a utilização de apenas um antibiótico na terapêutica a probabilidade de haver bacilos resistentes é elevada (Loddenkemper *et al.*, 2002).

Com tratamento monoterapêutico somente os bacilos suscetíveis irão ser combatidos, permanecendo os bacilos resistentes, originando uma melhoria imediata dos sintomas mas, também, uma recaída com menor taxa de sucesso do tratamento (Curry, 2008).

Há muito se sabe que o maior indicador clínico de desenvolvimento de multirresistência (MR) é o contato prévio com fármacos (Toungousova *et al.*, 2002; Ramaswami e Musser, 1998; Rocha *et al.*, 2008). Assim, a MR, resistência pelo menos à H e à R, conforme o conceito internacional, é considerada um fenômeno biológico iatrogênico decorrente da aplicação inadequada dos regimes de tratamento de curta duração (Hofling *et al.*, 2005).

Atualmente, a MDR vem se disseminando por movimentos migratórios e constitui uma grande ameaça para o mundo, na ausência de novos fármacos capazes de reverter essa situação (Jamal e Moherdau, 2007; WHO, 2009; WHO, 2011). A MDR-TB já é responsável por metade dos casos novos na China, Índia e Rússia. O diagnóstico lento dos casos de MDR-TB é apontado como o maior obstáculo no controle da MDR-TB (Asencios *et al.*, 2012).

O genoma do *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv foi completamente sequenciado em 1998, o que permitiu enorme avanço no conhecimento da biologia do bacilo, que tem um

cromossomo circular, com 4.411.532 pares de base, 4.043 genes que codificam 3.993 proteínas e conteúdo guanina (G) e citosina (C) de 65.6%. Cerca de 230 genes estão envolvidos no metabolismo lipídico. Dezessete por cento dos genes do *M. tuberculosis* codificam componentes da parede celular. Atualmente são conhecidas as funções de 2.058 proteínas codificadas, o que corresponde a 52% do seu proteoma (Toungousova *et al.*, 2002).

A resistência à R está relacionada ao gene *rpoB* que codifica a subunidade beta da RNA polimerase. A mutação nesse gene interfere na síntese do ácido ribonucleico (RNA). As mutações ocorrem em uma região central do gene *rpoB*, que codifica a sub-unidade beta da RNA polimerase. Seu *hot spot* possui 81 pares de base (27 códons) e é delimitado pelos códons 507 a 533, o que facilita o diagnóstico molecular de resistência (Mani *et al.*, 2001). As mutações mais frequentes nessa área ocorrem nos códons 526 e 531 (Valim *et al.*, 2006; Ellard e Fourie, 1999).

O mecanismo de resistência à H não está totalmente elucidado. Ela é uma pró-droga que necessita ser ativada pela enzima catalase-peroxidase que é codificada pelo gene *KatG* para se tornar ativa. Uma mutação nesse gene já torna o micro-organismo resistente a H. O alvo mais conhecido de ação da H é a via de síntese do ácido micólico da parede celular, sendo a enoil-acil redutase a proteína carregadora que é codificada pelo gene *inhA*, sendo este outro ponto de mutação que confere resistência ao antimicrobiano. O mecanismo de ação da H ainda pode envolver outros genes ainda não descritos, pois já existem isolados clínicos resistentes a este antimicrobiano que não apresentam mutações em *KatG* e nem em *inhA*.

O avanço da biologia molecular trouxe enorme perspectiva de desenvolvimento de novos métodos capazes de diagnosticar, em menor prazo, a TB e a MDR-TB por técnicas de PCR e de sequenciamento de genes para o diagnóstico de mutações que levam à resistência bacteriana (Jiao *et al.*, 2007).

2.10 Organização dos Serviços de Saúde do Distrito Federal

O Distrito Federal é composto por Brasília, a capital do Brasil e 31 regiões administrativas com uma população de 2,570.160 milhões (IBGE, 2010). A distribuição dos serviços de saúde no DF é coordenada por 5 Regionais de Saúde que agrupam as 19 Regiões Administrativas-(RA), conforme Quadro 4.

Quadro 4 Distribuição dos Serviços de Saúde por Regionais de Saúde Regiões Administrativas e presença do Programa de Controle da TB (PCT).

Regionais de Saúde	Coordenação Geral de Saúde	Região Administrativa-RA	Serviços de Saúde	Apresentam PCT
Centro-Sul	Asa Sul	RA1 - Brasília (Asa Sul)	Hospital de Base do DF, Hospital Regional da Asa Sul, Unidade Mista da Asa Sul, Centros de Saúde nº 5,7,8,6, Posto de Saúde Rural do Park Way, Diretoria de Saúde do Trabalhador (DISAT), Centro de Testagem e Aconselhamento, Núcleo de Inspeção de Brasília, Núcleo de Inspeção do Lago Sul.	SIM
		RA16 - Lago Sul		
	Núcleo Bandeirante	RA8 - N. Bandeirante	Centro de Saúde nº 1 da Candangolândia, nº 2 do Núcleo Bandeirante, nº 3 do Riacho Fundo I, nº 4 do Riacho Fundo II, Posto de Saúde Urbano nº 1 e 2 do Riacho Fundo II, Pronto Socorro Rural do Riacho Fundo II, Núcleo de Inspeção do Núcleo Bandeirante, Núcleo de Inspeção do RF e Instituto de Saúde Mental (CAPS).	SIM
		RA17 e 21 - R. Fundo I e II		SIM
		RA19 - Candangolândia		SIM
	Guará	RA 10 - Guará (inclui SCIA e SIA)	Hospital Regional do Guará, Centro de Saúde nºs 1,2 e 3, Posto de Saúde Urbano nº 1, Centro de Saúde da Estrutural, CAPS, Laboratório Regional do Guará, CAPS álcool e drogas, Núcleo de Inspeção do Guará.	SIM

Centro-Norte	Asa Norte	RA1 - Brasília (Asa Norte)	Hospital Regional Asa Norte, Centros de Saúde nº 11, 12,13 e15, Centro de Saúde 9 e 14 do Cruzeiro,	SIM
		RA18 - Lago Norte	Centro de Saúde 9 e 14 do Cruzeiro,	SIM
		RA 11 e 22 - Cruzeiro, Sudoeste/Octogonal	Centro de Saúde do Varjão, Núcleo de Inspeção do Cruzeiro, Núcleo de Inspeção do Lago Norte, Núcleo de Inspeção Brasília Norte, Hospital de Apoio de Brasília, COMPP (CAPSi), LACEN e Fundação Hemocentro de Brasília.	SIM
Oeste	Ceilândia	RA9 - Ceilândia	Hospital Regional da Ceilândia, Centros de Saúde nº 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12, Posto de Saúde Urbano Privê, Posto de Saúde Rural nº 1, Laboratório Regional da Ceilândia, CAPS álcool e drogas.	SIM
	Brazlândia	RA4 - Brazlândia	Hospital Regional Brazlândia, Centro de Saúde nº 1 e2, Posto de Saúde Urbano nº1, Posto de Saúde Veredas, Posto de Saúde Rural 1 e 2, Núcleo de Inspeção de Brazlândia.	SIM

Sudoeste	Taguatinga	RA3 - Taguatinga	Hospital Regional Taguatinga, Hospital São Vicente de Paula, Centro de Saúde nº 1,2,3,4,5,6,7 e 8, Posto de Saúde Urbano do Areal, Central Radiológica de Taguatinga, CAPS II, Unidade Mista de Taguatinga, Núcleo de Inspeção de Taguatinga Sul, Núcleo de Inspeção de Taguatinga Norte.	SIM
	Samambaia	RA12 - Samambaia	Hospital Regional Samambaia, Centro de Saúde 1,2,3 e 4, Posto de Saúde Urbano 1, Núcleo de Inspeção da Samambaia, CAPS II e Unidade de Pronto Atendimento - UPA.	SIM
	Rec. das Emas	RA15 - Recanto das Emas	Centro de Saúde nº 1 e 2, Posto de Saúde Urbano 1, Núcleo de Inspeção do Recanto das Emas.	SIM
Norte	Sobradinho	RA5 - Sobradinho	Hospital Regional Sobradinho, Centros de Saúde 1,2 e 3, Postos de Saúde Rural 1,2,3 e 4, Núcleo de Inspeção de Sobradinho, CAPS álcool drogas.	SIM
	Planaltina	RA6 - Planaltina	Hospital Regional Planaltina, Centro de Saúde nº 1, 2, 3, 4 e 5, Posto de Saúde Urbano 1, Posto de Saúde Rural 1, 2, 3, 4, 7, 9 e Arapoanga, Núcleo de Inspeção de Planaltina, CAPS álcool drogas II.	SIM

Leste	Paranoá	RA7 - Paranoá, Jardim Botânico, Itapoã	Hospital Regional Paranoá, Centros de Saúde nº 1 e 2, Centro de Saúde do Itapoã, Posto de Saúde Rural 1,5,6 e 8, CAPS.	SIM
	São Sebastião	RA14 - São Sebastião	Centro de Saúde 1, Posto de Saúde Urbano 1 e 2, Posto de Saúde Rural 2, Unidade Mista de São Sebastião, Núcleo de Inspeção de São Sebastião.	SIM
Sul	Gama	RA 2 – Gama	Hospital Regional Gama, Centro de Saúde 1,2,3,4,5,6 e 8, Posto de Saúde Rural 1,3 e 4, Policlínica, Núcleo de Inspeção do Gama, CAPS II.	SIM
	Santa Maria	RA 13 - Santa Maria	Hospital Regional Santa Maria, Centro de Saúde nº 1 e 2, Posto de Saúde Urbano 1,2 e 3, Núcleo de Inspeção de Santa Maria, CAPS álcool drogas.	SIM

Fonte: Decreto do Governo do DF nº 34.213, de 14 de março de 2013. Anexo Único.

O Laboratório Central de Saúde Pública do DF (LACEN-DF), coordena os Laboratórios da Rede Pública de Saúde – são as unidades laboratoriais vinculadas à Subsecretaria de Atenção à Saúde da Secretaria de Estado de Saúde estabelecidas nos Hospitais, Unidades de Pronto Atendimento, Emergências, Unidades de Saúde Ambulatorial, Centros de Referência e Postos de Saúde do Distrito Federal, que funcionam sob orientação técnico-normativa do LACEN-DF (Distrito Federal, 2013). O LACEN-DF recebe amostras de todas as Regionais de Saúde do DF e de laboratórios privados, sendo a cultura para micobactérias ali centralizada.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a resistência aos tuberculostáticos de primeira linha nos isolados do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* no DF.

3.2 Objetivos Específicos

Comparar a eficácia e a segurança das combinações em dose fixas combinadas (DFC) versus drogas separadas (DS) para o tratamento da TB pulmonar na literatura;

Caracterizar os casos de TB no DF;

Determinar o perfil de sensibilidade das cepas do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* identificadas no LACEN-DF nos anos de 2001 a 2013;

Comparar os perfis de sensibilidade das cepas do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* isoladas antes e após a introdução do novo tratamento para TB;

Caracterizar as principais mutações genéticas nos genes rpoB, KatG e inhA das cepas isoladas de 2011 a 2013.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Desenho geral do estudo

Estudo transversal descritivo com o objetivo de avaliar a resistência do *Mycobacterium tuberculosis* aos tuberculostáticos de primeira linha no Distrito Federal.

4.2 Período de estudo

Compreendido de 1º de janeiro de 2001 a 31 de dezembro de 2013.

4.3 Casuística

Foram analisadas as culturas positivas e os respectivos testes de sensibilidade realizados no LACEN-DF, que faz parte da Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública para o Diagnóstico de TB do Brasil. É o laboratório que realiza o teste de sensibilidade para o bacilo da TB para toda a rede pública e privada do DF.

Os materiais recebidos são principalmente o escarro, líquido, lavado gástrico, lavado brônquico e material de biópsia, encaminhados mediante solicitação médica contendo o nome do paciente, idade, regional de saúde tipo de material, solicitação de cultura e teste de sensibilidade.

O teste de sensibilidade foi realizado em todas as amostras que eram acompanhadas de solicitação, independentemente de tratar-se de paciente HIV positivo ou não. Existe uma obrigatoriedade da realização do teste de sensibilidade na cultura positiva para CMTB de pacientes soropositivos para HIV, falência do tratamento, retratamento, paciente com suspeita de resistência primária, contactantes de caso com TB resistente para vigilância epidemiológica dos casos.

4.4 Comparação da eficácia e segurança das (4-DFC) versus DS na literatura

Foi realizada uma revisão sistemática com metá-análise de ensaios clínicos randomizados de acordo com o *guideline* PRISMA, diretrizes específicas para realização de revisões sistemáticas. Essa revisão, detalhada no Apêndice, foi registrada na plataforma

PROSPERO, específica para o registro de revisões sistemáticas sob o número CRD42013003217.

Foram pesquisadas as seguintes bases de dados: CINAHL, Cochrane Library, LILACS, MEDLINE, SciELO, Scopus, Web of Science, Science Direct, EMBASE, banco de dados da CAPES e bases de dados de domínio público. Sem restrição de língua, desde a criação da base até a data de 10 setembro de 2013. Foram comparados os resultados de ensaios clínicos randomizados (ECRs) envolvendo pacientes recém diagnosticados para TB que utilizavam 4-DFC e as drogas separadas nos primeiros dois meses do tratamento para TB. As palavras-chaves utilizadas foram: *tuberculosis; treatment; and rifampicin; and isoniazid; and ethambutol; and pirazinamide; e not HIV*. Após a seleção dos estudos foram analisados em texto completo os artigos em inglês, francês e espanhol.

4.5 Caracterização dos casos de TB no DF

Para a caracterização dos casos de TB no DF foi realizado um levantamento de dados a partir dos bancos de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação do Ministério da Saúde (SINAN), do período de 2001 a 2013, fornecidos pela Secretária de Saúde do DF. O SINAN contempla o tratamento informatizado dos dados provenientes da Ficha de Notificação/Investigação de casos de TB (ANEXO B). Com o propósito de caracterizar os casos notificados no SINAN, foram definidas as variáveis relacionadas às características demográficas, local e unidade de origem da amostra, data, forma clínica, comorbidades, evolução e condição de egresso, conforme Quadro 5.

Quadro 5 Variáveis analisadas na ficha de notificação/investigação e encerramento de TB.

Número do campo	Variável
2	Data da notificação
6	Data do diagnóstico
4	Unidade de saúde
8 ou 9	Idade
10	Sexo
11	Raça
12	Escolaridade
24	Zona
28	Tratamento
20	Município de residência
31	Forma
33	Agravo associado
34	Baciloscopia de escarro
35	Baciloscopia de outro material
36	Cultura de escarro
37	Cultura de outro material
38	HIV
55	Situação de encerramento

Fonte: Ficha de notificação/investigação/encerramento de casos de TB do SINAN

Os casos de MDR-TB foram pesquisados no Sistema de Informação para Tratamento Especial de TB (SITETB). Este sistema é uma plataforma destinada ao registro e acompanhamento dos casos de TB que não se enquadram nos esquemas de tratamento padronizado ou por desenvolvimento de resistência (Brasil, 2015c)

4.6 Critérios de inclusão e exclusão

Foi realizada uma busca retrospectiva dos resultados dos testes de sensibilidade das amostras encaminhadas ao LACEN-DF no período 2001 a 2010 e uma análise prospectiva no período de 2011 a 2013. Foram incluídos no estudo todos os testes de sensibilidade realizados neste período. Na eventualidade de culturas positivas de um cliente em duplicidade ou repetidas ao longo do ano, a exclusão da mesma foi realizada quando o perfil de sensibilidade foi idêntico entre elas.

As amostras do período de 2011 a 2013 já sob influência da mudança do tratamento da TB, foram utilizadas para comparação do perfil de resistência.

Excluíram-se do cálculo da taxa de resistência do CMTB as amostras procedentes de outros estados. A procedência é o local da coleta da amostra e não necessariamente do domicílio do paciente.

4.7 Definição de termos

4.7.1 Tuberculose confirmada

Quando ocorreu cultura positiva para micobactéria com subsequente confirmação da espécie como CMTB em espécime clínico.

4.7.2 HIV positivo

Quando era assinalado na guia de solicitação médica para realização do teste de sensibilidade em espécime clínico enviado ao LACEN-DF.

4.7.3 Monorresistência

Resistência a apenas um fármaco.

4.7.4 Multirresistência

Resistência a pelo menos R e H.

4.7.5 Outros padrões de resistência

Resistência a mais de um fármaco, não incluindo a associação de R e H.

4.7.6 Extensivamente resistente aos tuberculostáticos

Resistência a todos os fármacos de primeira linha mais uma fluorquinolona e uma droga injetável de segunda linha.

4.8 Protocolo

Nos materiais enviados ao LACEN-DF foram realizados os seguintes exames: baciloscopia concentrada, cultura, identificação das micobactérias e o teste de sensibilidade pelo método das proporções e BACTEC MGIT 960® ambos considerados como padrão ouro para determinação de resistência aos tuberculostáticos. Nas cepas resistentes, de 2011 a 2013, foi realizado teste de sensibilidade genotípico utilizando o kit Genotype MTBDRplus® que detecta as principais mutações nos genes rpoB, KatG e inhA, o primeiro responsável pela resistência à R e os demais, à H.

4.8.1 Baciloscopia concentrada

A baciloscopia é o exame básico para o diagnóstico bacteriológico da TB, especialmente na forma pulmonar. A baciloscopia concentrada é a confecção da lâmina para análise microscópica a partir do material clínico concentrado e a metodologia utilizada para sua execução está descrita no Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da TB e outras Micobactérias. A coloração da lâmina foi a de Ziehl-Neelsen, sendo que os resultados foram fornecidos segundo a seguinte escala semi-quantitativa (Brasil, 2008):

- (-) não foram encontrados BAAR em 100 campos observados.
- (+) houve a presença de menos de 1 BAAR por campo em 100 campos observados.
- (++) houve a presença de 1 a 10 BAAR por campo em 50 campos observados.
- (+++)) houve a presença de mais de 10 BAAR por campo em 20 campos observados

4.8.2 Cultura

A Cultura é o método bacteriológico mais sensível e específico disponível até o momento, para o diagnóstico da TB pulmonar e extra pulmonar.

As culturas no LACEN-DF são realizadas em meio solidificado de LJ e a descontaminação da amostra através do Método de N-acetil - L-cisteína – Hidróxido de Sódio (NALC-NaOH), conforme o Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da TB e outras Micobactérias (Brasil, 2008).

Todos os procedimentos de cultura e teste de sensibilidade foram realizados em ambiente com nível de biossegurança 3.

Durante o período de 8 semanas foram realizadas semanalmente verificações de crescimento bacteriano nos tubos informando-se os resultados das culturas positivas, relatando-se o aspecto (forma e cor), bem como a quantidade de colônias crescidas, segundo a seguinte escala quantitativa (Brasil, 2008).

- +++ Colônias confluentes
- ++ Colônias separadas (mais de 100)
- + de 20 a 100 colônias
- Nº número de colônias visualizadas
- 0 sem crescimento
- C contaminado

As colônias típicas do CMTB apresentaram a cor creme, de aspecto rugoso, desenvolvendo-se na superfície do meio e não alterando a cor do LJ.

4.8.3 Identificação

A identificação das micobactérias foi realizada por meio das seguintes técnicas: Tempo de crescimento, análise microscópica e macroscópica, produção de niacina, crescimento em meio LJ adicionado de ácido para-nitrobenzóico (PNB), crescimento em meio LJ adicionado de hidrazida do ácido tiofeno 2-carboxílico (TCH), e a partir de 2013 o teste com antígeno MPT64 em paralelo com o teste de niacina (Brasil, 2008).

4.8.4 Teste de sensibilidade

A sensibilidade das micobactérias às drogas antituberculosas foi avaliada utilizando-se o Método das Proporções que detecta proporções de bacilos resistentes presentes numa amostra frente a uma concentração da droga que é capaz de inibir o desenvolvimento de bactérias sensíveis e não o das resistentes (Canetti *et al.*, 1969). Define uma concentração crítica capaz de inibir o desenvolvimento de aproximadamente todas as cepas de micobactérias isoladas de pacientes não tratados e uma proporção crítica (critérios de resistência), que é a proporção de mutantes resistentes de uma população bacilar, acima da qual a cepa é considerada resistente (Tabela 1).

Tabela 1- Critérios de resistência do CMTB às drogas tuberculostáticas

Drogas	Concentração (mcg/ml)	Proporção Crítica (%)
Estreptomicina	4,0	10
H	0,2	1
R	40	1
E	2	1

Fonte: Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da TB e outras Micobactérias. Ministério da Saúde, Brasília, 2008.

Quanto ao cálculo da porcentagem de bacilos resistentes, aplicou-se o método da regra de três, comparada à respectiva proporção crítica, sendo que se o resultado se mostrasse superior ou igual à proporção crítica, seria considerada resistente (Canetti *et al.*, 1969).

Cada novo lote de meios de cultura com drogas foi controlado através da prova de sensibilidade com cepa H37Ra de *Mycobacterium tuberculosis*, sensível a todos os antibióticos e quimioterápicos utilizados contra a TB.

Foi realizado também o teste de sensibilidade pelo método do BACTEC MGIT 960[®], esse método é não radiométrico, permitindo, na maioria dos casos, a obtenção mais precoce de resultados apropriados da susceptibilidade a antibióticos. O BACTEC MGIT 960[®] SIRE Kit é um teste qualitativo com 4 a 13 dias de duração. O teste baseia-se no crescimento de isolados de CMTB num tubo contendo fármaco, que é comparado com um tubo isento de fármaco (Controle de crescimento). O instrumento BACTEC MGIT 960[®] monitora os tubos com relação a um aumento da fluorescência. A análise da fluorescência no tubo contendo fármaco, comparativamente com a fluorescência presente no tubo de Controle de crescimento, é usada pelo instrumento para determinar os resultados da sensibilidade. O instrumento BACTEC MGIT 960[®] interpreta automaticamente estes resultados utilizando algoritmos pré-definidos (que comparam o crescimento no tubo com o fármaco com o crescimento no tubo de Controle de crescimento) efetuando o relatório do resultado de susceptibilidade ou de resistência.

4.8.5 Identificação genotípica das cepas resistentes 2011 - 2013

Para o teste de genotipagem, foram utilizadas as cepas já identificadas como CMTB, isoladas no período de 2011 a 2013, por impossibilidade de recuperação das mais antigas, que apresentaram perfis de resistência que envolvem os fármacos R e H, tanto com

monorresistência como multirresistência para esses fármacos, pois o teste detecta as principais mutações dos genes *rpoB*, *KatG* e *inhA* responsáveis pela resistência à R e H respectivamente.

O kit GenoType MTBDRplus® foi utilizado de acordo com as instruções do fabricante, a partir de cultivos em meios sólidos LJ. Essas colônias foram ressuspensas em 300 mL de água para biologia molecular. As colônias foram inativadas por calor a 95 ° C durante 20 minutos e submetidas a sonicação por 15 min para extração do DNA bacteriano. As amostras foram em seguida centrifugadas a 22.000g durante 5 min, e o sobrenadante recolhido. O sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspenso em 100 µl de água para biologia molecular. Cinco microlitros do sobrenadante foi utilizado para amplificação, o que foi realizado num termociclador automático (sistema de PCR GeneAmp 9700) de acordo com o seguinte protocolo: 15 min de desnaturação a 95 ° C , 10 ciclos de desnaturação a 95 ° C durante 30s e alongação a 58 ° C durante 120s ; de 20 ciclos de desnaturação a 65 ° C durante 25s , hibridação a 53 ° C durante 40s e alongamento a 70 ° C durante 40s , e um passo de extensão final a 70 ° C durante 8 min.

Após desnaturação, os produtos de amplificação marcados com biotina devem ser hibridizados com as sondas ligadas à membrana de cadeia simples. Depois de uma lavagem rigorosa, um conjugado de estreptavidina-fosfatase alcalina é adicionado às tiras e uma reação de coloração, mediada com fosfatase alcalina, foi observada nas faixas onde o fragmento amplificado e a sonda foram hibridizados.

A faixa de ensaio do kit GenoType MTBDRplus® contém 27 sondas de reação, sendo 21 delas sondas para as mutações e seis sondas de controle para verificação dos procedimentos de teste. As seis sondas de controle incluem um controle de conjugado, um controle de amplificação, um específico do CMTB, controle M.TUB, um controle de amplificação *rpoB*, um controle de amplificação *katG*, e um controle de amplificação *inhA*.

Para a detecção de resistência à R, as sondas cobrem o gene *rpoB*, enquanto as sondas específicas de resistência à H cobrem as posições do *KatG* e *inhA*. A ausência de, pelo menos, uma das bandas de tipo selvagem ou a presença de bandas mutadas indicam uma mutação em cada gene relacionado com a resistência à droga, indicando que a amostra testada é resistente ao respectivo antibiótico. Quando todas as sondas do tipo selvagem são detectadas e não há nenhuma mutação detectável na região analisada, a amostra testada é suscetível ao respectivo antibiótico (Figura 3). A fim de dar um resultado válido, todas as seis bandas de controle esperados devem aparecer corretamente. Para o gene *rpoB*, responsável pela resistência à R,

são avaliadas as seguintes mutações: D516V, H526Y, H526D, e S531L. Para o gene *KatG* são avaliadas as mutações S315T1 e S315T2 e para o gene *inhA* as mutações C15T, A16G, T8C, e T8A. Ambos os genes relacionados com a resistência à H. A leitura dos testes do kit GenoType MTBDRplus® foi realizada às cegas sem o conhecimento da susceptibilidade pelo método das proporções e/ou Bactec MGIT 960®. Em todos os testes realizados foi sempre acrescentado um controle com uma cepa H37RA sensível a todos os fármacos e uma cepa MDR já analisada no Centro de Referência Professor Hélio Fraga- Fiocruz-RJ.

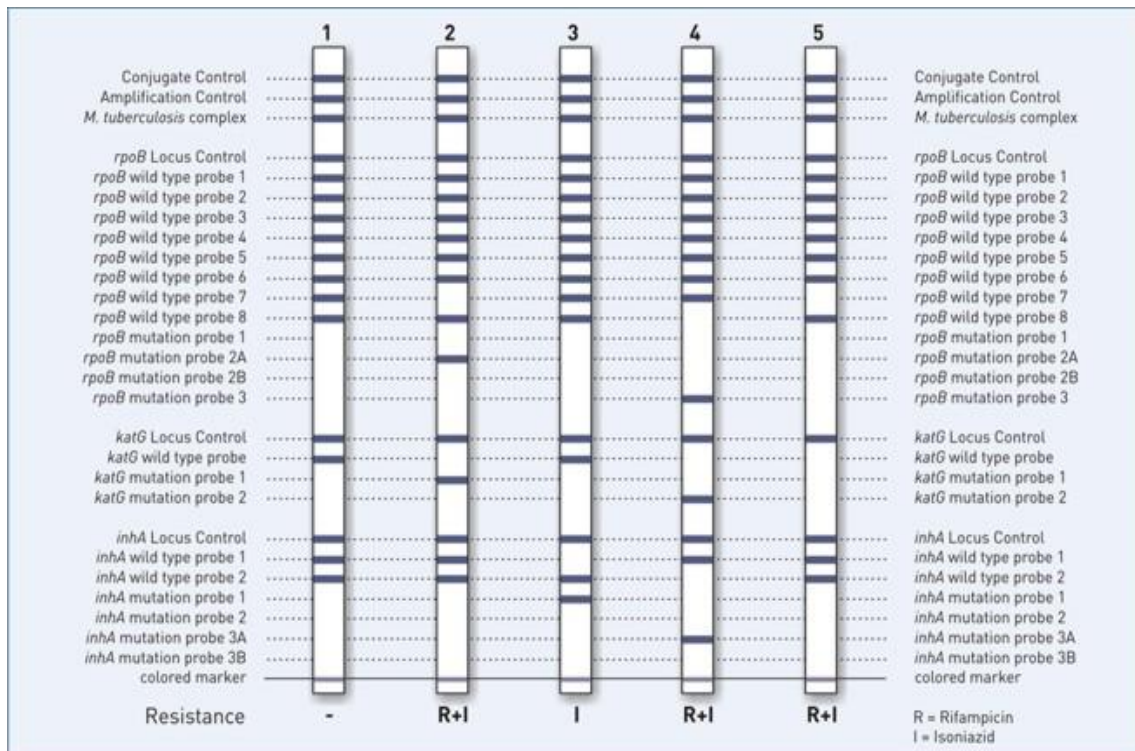


Figura 3: Tipos de interpretações do kit GenoType MTBDRplus®. Hain Life Science.

4.9 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

A pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde (FEPECS) por estar vinculada ao LACEN-DF, órgão da Secretaria de Saúde do DF (SES-DF) e aprovada com o número 610/11 (ANEXO A).

5 RESULTADOS

5.1 Comparação da eficácia e segurança das 4-DFC versus DS na literatura

A estratégia de busca recuperou 438 artigos e, quando aplicados os critérios de inclusão e exclusão, cinco estudos envolvendo 3.502 pacientes foram analisados em texto completo (Apêndice), todos eles realizados e publicados em países com alta incidência de TB.

Os eventos adversos mais comuns foram doenças gastrointestinais (náuseas, vômitos), que foram relatadas por todos os estudos. No entanto, reações dermatológicas, reumatológicas, problemas hepáticos e até mesmo morte foram citados. Apenas um estudo avaliou a aceitabilidade dos medicamentos pelos pacientes, em termos de sabor, número de comprimidos, e os problemas com a deglutição. Em um estudo as 4-DFC melhoraram significativamente a aceitação do regime de tratamento pelo paciente (Bartacek, *et al.*, 2009). Para avaliar a qualidade metodológica dos estudos incluídos, foi utilizada a escala de Jadad.

Para a análise quantitativa foi realizada uma meta-análise para as seguintes variáveis: taxa de conversão do escarro na fase inicial e final do tratamento, número de pacientes com eventos adversos e número de pacientes com eventos adversos gastrointestinais. Para cada variável, a seguinte hipótese nula foi testada:

H0: O evento de interesse (variável) tem a mesma chance de ocorrer em ambos os grupos de tratamento (4-DFC e DS).

Os resultados da meta-análise não revelaram uma diferença estatística significativa entre os tratamentos DS e 4-DFC em termos de taxa de conversão do escarro na fase inicial e final do tratamento, também não houve diferença com relação ao número de pacientes com eventos adversos. No entanto, a medida meta-analítica (log OR) revelou que o tratamento DS tem uma probabilidade 1,65 vezes maior de provocar eventos adversos gastrointestinais em comparação com o tratamento 4-DFC. Todos os resultados encontram-se detalhados no Apêndice.

5.2 Caracterização dos casos de TB no DF

No período de 2001-2013 foram registrados no SINAN 4.984 casos de TB no DF. Esses casos se dividiram em 4407 (88,4%) casos novos, 198 (3,6%) recidivas, 133 (2,7%)

reingressos após abandono, 20 (0,4%) não sabe, 225 (4,5%) transferências, 1 (0,02%) ignorado e 20 (0,4%) em branco (Figura 4).

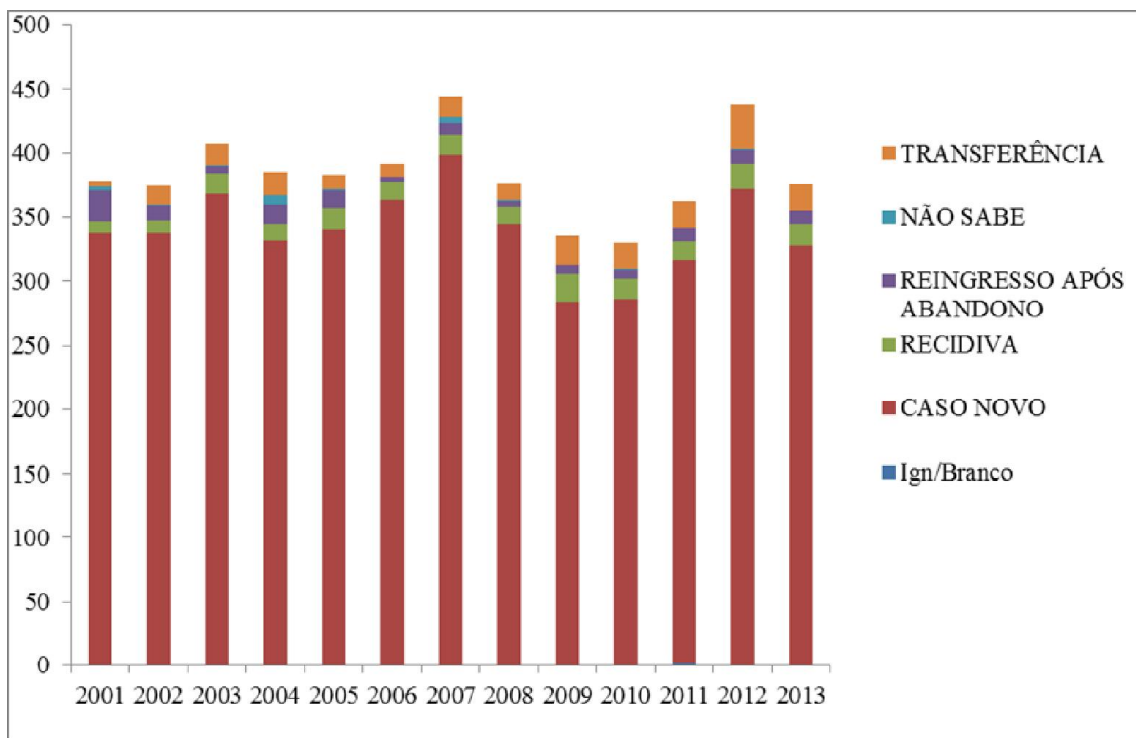


Figura 4. Tipos de entrada dos casos notificados de TB: Adaptado do SINAN-DF 2001-2013

As Regiões Administrativas do DF que contribuíram com o maior percentual de casos novos de TB foram Ceilândia (n=518; 10,4%), seguida por Taguatinga (n= 452; 9,1%), Samambaia (n=379; 7,62%), Planaltina (n=373; 7,5%), Sobradinho (n=279; 5,6%), Gama (n=263; 5,3%). No entanto, vale salientar que em 1080 casos (21,7%) o local de residência estava em branco (Figura 5).

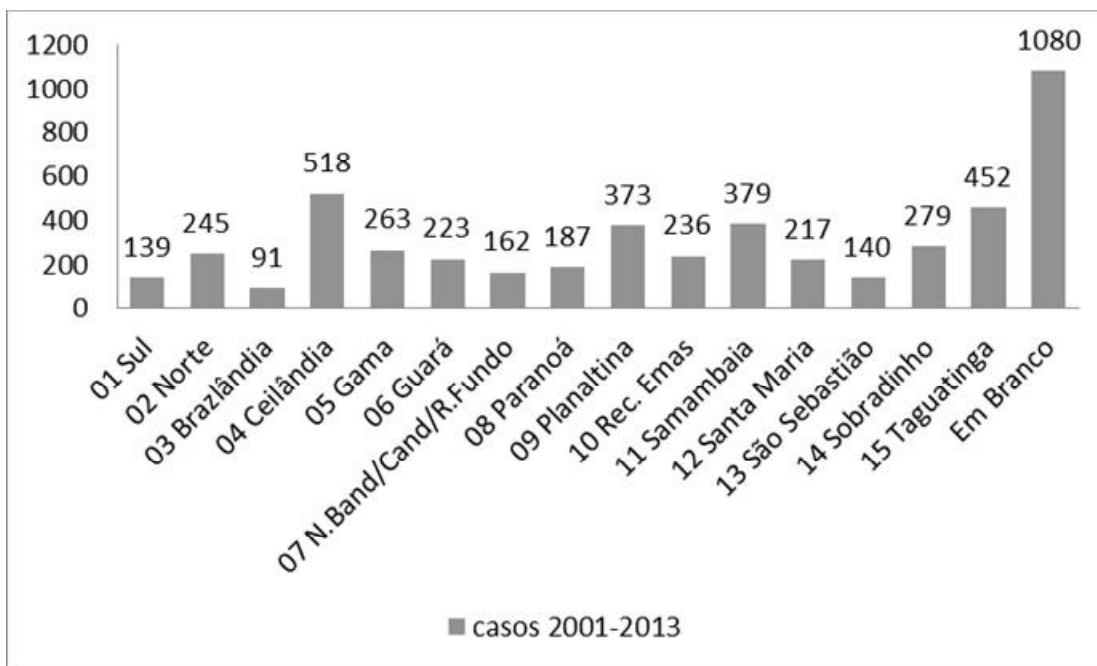


Figura 5. Distribuição de todos os casos por coordenação geral de saúde. Adaptado do SINAN-DF 2001-2013

Constatou-se que a maioria dos casos de TB ocorreu em adultos jovens. No período de 2001-2013, a mediana da idade dos casos foi de 27 anos. A maior proporção de pacientes tinha idade entre 20 e 34 anos, seguida por 35 a 49 anos (Figura 6).

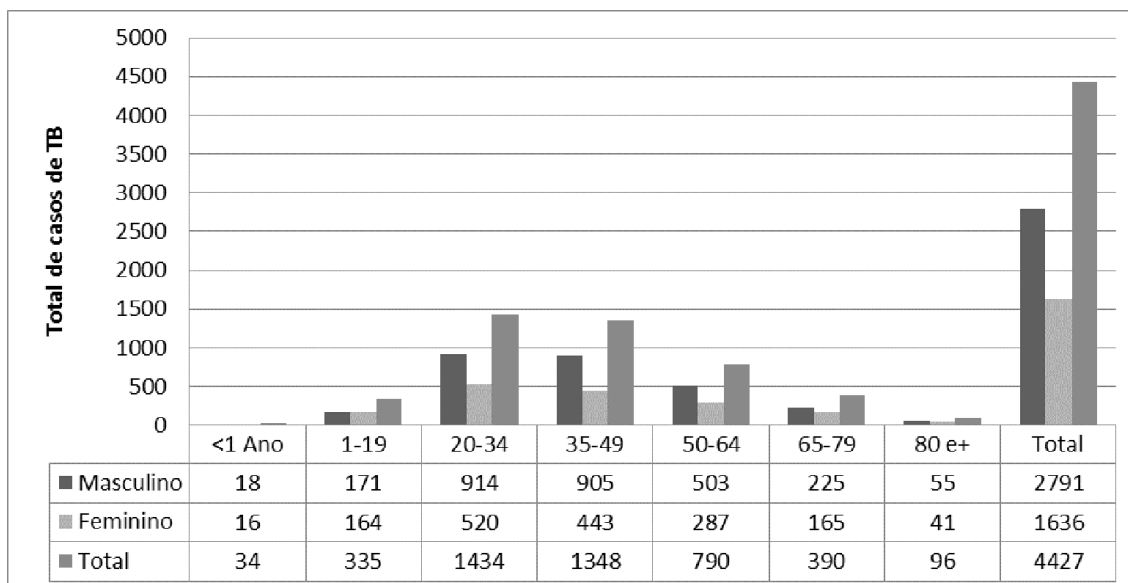


Figura 6 Número de casos de TB segundo grupos etários e sexo. Adaptado do SINAN-DF 2001-2013.

Em relação à variável sexo, observou-se que houve predomínio de casos de TB no sexo masculino (63,0% dos casos) para todos os anos em estudo. Foi também verificado um predomínio de TB no DF em pessoas que se autodenominavam de cor parda (n=1.949; 39,1%). Os casos de TB no DF se concentram na zona urbana (n= 4.251; 85,3%). Quanto à distribuição dos casos segundo a forma clínica, observou-se predomínio da forma pulmonar com 71,6% (n=3568) dos casos. As formas extrapulmonares e mistas (extrapulmonar mais pulmonar) se apresentaram em 25,6% (n=1276) e 2,8% (n= 140), respectivamente.

As comorbidades mais frequentes registradas foram Aids (9,7 %), seguida de alcoolismo (7,6%) e diabetes (4,6%).

Com relação à baciloscopia de pré-tratamento constatou-se positividade para o bacilo da TB em 54,3% dos casos, sendo expressivo o número de casos nos quais o exame foi negativo (aproximadamente 34,2%) e em 11,5% o exame de baciloscopia não foi realizado. No período de 2001 a 2013, o número de baciloscopias realizadas para controle de tratamento estava muito abaixo das recomendações do PNCT. Com positividade de 3,7%, 0,7% e 0,4% respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2- Realização de baciloscopias de diagnóstico e acompanhamento de tratamento. Adaptado do SINAN-DF 2001-2013.

	Positivo		Negativo		Não-realizado		Ignorado		Total
	N	%	N	%	N	%	N	%	N
Diagnóstico	2013	54,3	1267	34,2	428	11,5	1276	25,6	4.984
2º mês	186	3,7	1928	38,7	2160	43,3	710	14,2	4.984
4º mês	36	0,7	1855	37,2	2250	45,1	843	16,9	4.984
6º mês	21	0,4	1900	38,1	2063	41,4	1000	20,1	4.984

Analisando a realização de cultura, constatou-se positividade para o bacilo da TB em 857 casos (57,2%) dos 1498 testes realizados, sendo expressivo o número de casos nos quais o referido exame não foi realizado (69,9%). Dos 857 casos com culturas positivas para CMTB, 588 tiveram testes de sensibilidade realizados e 120 apresentaram algum tipo de resistência. Testes diagnósticos para HIV foram realizados em 30,1% dos casos (Tabela 3).

Tabela 3- Cultura e testes diagnósticos para HIV dos casos notificados de TB. Adaptado do SINAN-DF 2001-2013.

Positivo		Negativo		Não-realizado		Total
N	%	N	%	N	%	N
Realização da cultura de escarro nos casos de TB						
857	17,2	641	12,9	3486	69,9	4.984
Testagem para HIV						
483	9,7	1015	20,4	3486	69,9	4.984

Para a situação de encerramento dos casos de TB no DF a cura foi de 82,5%, sendo que à partir de 2011 a queda na cura está sendo influenciada pelo aumento nos casos de transferência seguidas do abandono 5,0%. A letalidade por TB foi de 0,9% e 0,6% pacientes não apresentaram registro da situação de encerramento (Tabela 4).

Tabela 4- Casos de TB segundo a situação de encerramento. Adaptado do SINAN-DF 2001-2013.

Ano	Situação de encerramento														Total N
	Cura		Abandono		Óbito TB		Outros óbitos		Transferido outra UF		TB-MDR		Ignorado		
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
2001	315	83,1	34	9	0	0	17	4,5	13	3,4	0	0	0	0	379
2002	318	84,8	24	6,4	3	0,8	24	6,4	6	1,6	0	0	0	0	375
2003	343	84,3	24	5,9	3	0,7	25	6,1	12	2,9	0	0	0	0	407
2004	326	84,7	21	5,5	0	0	21	5,5	14	3,6	3	0,8	0	0	385
2005	322	84,1	28	7,3	0	0	15	3,9	17	4,4	0	0	1	0,3	383
2006	331	84,4	17	4,3	2	0,5	17	4,3	23	5,9	0	0	2	0,5	392
2007	375	84,5	10	2,3	4	0,9	25	5,6	24	5,4	2	0,5	4	0,9	444
2008	310	82,2	13	3,4	3	0,8	13	3,4	37	9,8	0	0	1	0,3	377
2009	286	85,4	14	4,2	3	0,9	13	3,9	17	5,1	0	0	2	0,6	335
2010	272	82,4	8	2,4	8	2,4	15	4,5	26	7,9	0	0	1	0,3	330
2011	283	78,0	16	4,4	5	1,4	3	0,8	50	13,8	0	0	6	1,7	363
2012	336	76,7	22	5	6	1,4	8	1,8	60	13,7	0	0	6	1,4	438
2013	294	78,2	19	5,1	8	2,1	11	2,9	36	9,6	2	0,5	6	1,6	376
Total	4.111	82,5	250	5	45	0,9	207	4,2	335	6,7	7	0,1	29	0,6	4.984

Quando foi comparado o número de casos de MDR-TB do SINAN, SITETB e LACEN-DF percebe-se uma variação grande. O SINAN tem poucos casos encerrados no sistema como MDR e o SITETB aproxima-se aos dados do LACEN-DF. A diferença entre o SITETB e o LACEN-DF pode ser explicada pelas transferências, pois alguns pacientes já dão

entrada como MDR-TB não sendo testado no LACEN-DF e o contrário também ocorre quando o paciente realiza o teste no DF, mas é transferido para outra UF (Figura 7).

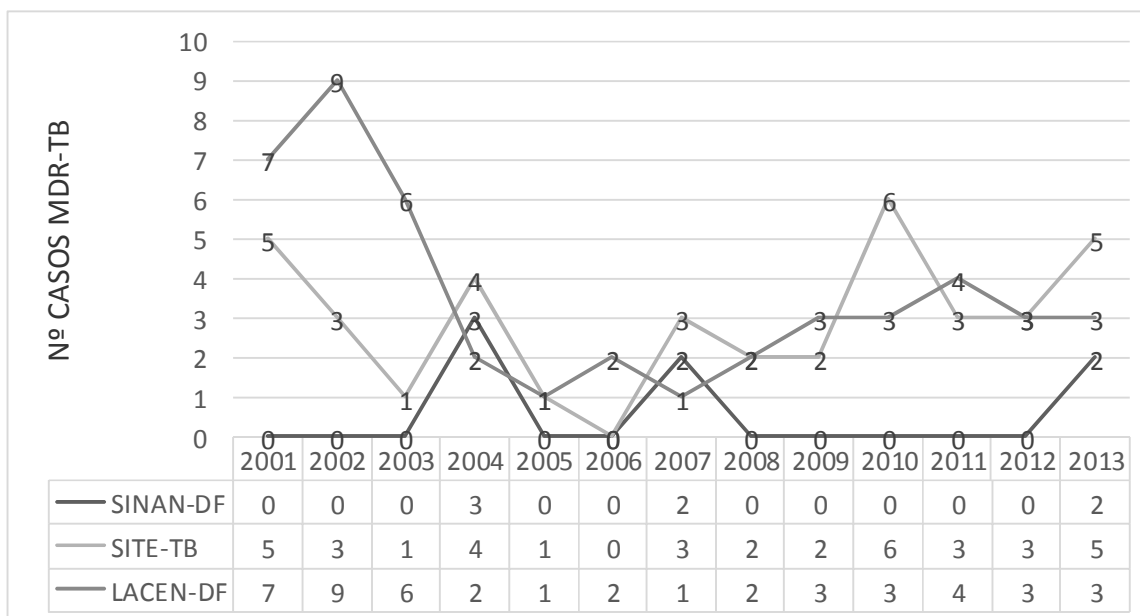


Figura 7 Número de notificações dos casos de MDR-TB, SINAN, SITETB e LACEN-DF.

5.3. Perfil de Sensibilidade das Cepas do CMTB de 2001 a 2013 no DF.

No período de 2001-2013 foram realizados 598 testes de sensibilidade aos tuberculostáticos de 588 pacientes. Entre esses, sete pacientes apresentaram uma mudança no perfil de sensibilidade durante os 12 anos analisados, passando de monorresistência para multirresistência e um paciente apresentou três mudanças no perfil de sensibilidade, evoluindo de sensível para multirresistente e no final se tornou extensivamente resistente (XDR-TB).

Entre os 588 pacientes, 120 (20,4%) apresentaram algum tipo de resistência aos tuberculostáticos de 1ª linha, sendo 90 (75%) do sexo masculino. A idade média dos pacientes resistentes era de 41,1 anos (variando de 21-79 anos de idade). Em nove (7,5%) solicitações médicas o paciente estava identificado como HIV positivo, 11 (9,2%) identificado como HIV negativo, 15 (12,5%) declararam não ter sido testado para HIV, 1 solicitação informou estar em andamento o teste anti-HIV; em 84 (70%) solicitações médicas não havia esta informação.

Todas as amostras foram encaminhadas por unidades de saúde do DF, sendo 4 (3,3%) da rede privada e 116 (96,6%) da rede pública. Todos os testes de sensibilidade foram

solicitados por suspeita de falência, recaída e/ou abandono. Fato que classifica a resistência aos tuberculostáticos como resistência secundária e não primária.

Entre as 120 amostras com cepas que apresentaram algum tipo de resistência 115 (95,8%) eram de origem pulmonar e 5 (4,2%) de origem extrapulmonar, sendo 2 fragmentos ósseos, uma de líquido cefalorraquidiano, uma de aspirado de coluna lombar e uma de secreção ganglionar.

No período analisado as amostras resistentes foram provenientes de 30 unidades de saúde do DF, com destaque para as Coordenações Geral de Saúde do Gama, Asa Sul e Ceilândia, locais tradicionalmente de maior número de casos de TB.

Os pacientes com resistência tiveram a solicitação do exame feito por uma unidade hospitalar em 70 (58,3%) dos casos, com destaque para o Hospital Regional do Gama (HRG) unidade de internação de pacientes com TB, seguido do Hospital Regional da Asa Norte (HRAN) e Hospital Universitário de Brasília (HUB).

Após a análise dos perfis de resistência apesar das variações encontradas e devido ao número pequeno de casos o perfil de resistência parece se manter estável (Tabela 5).

Tabela 5- Perfil de resistência aos tuberculostáticos entre 2001-2013. LACEN/GBM/LMT/SES-DF.

Ano	Monorresistência				MDR	XDR-TB	Outras resistências	Total de testes
	H	R	S	Total	R+H	R+H+S+E	H+S	
2001	3	0	0	3	7	0	0	47
2002	2	0	0	2	9	1	0	51
2003	1	2	1	4	6	1	1	49
2004	3	0	2	5	2	0	0	45
2005	2	0	1	3	1	0	0	42
2006	4	0	0	4	2	0	0	30
2007	1	0	4	5	1	0	2	45
2008	2	0	6	8	2	1	0	41
2009	3	0	1	4	3	0	0	33
2010	2	2	4	8	3	0	0	44
2011	2	2	2	6	4	0	0	42
2012	0	2	7	9	3	1	0	53
2013	4	0	1	5	3	0	1	76
Total	29	8	29	66	46	4	4	598

R= rifampicina, H= isoniazida, S=estreptomicina, E= etambutol, MDR= multidrogaresistente XDR= extensivamente resistente aos tuberculostáticos

As taxas de monorresistência adquirida foram de: 4,8% à H, 4,8% à estreptomicina e 1,3% à R. As taxas adquiridas de MDR-TB, XDR-TB e outras resistências foram 7,7%, 0,7% e 0,7% respectivamente.

5.4 Comparação dos Perfis de Sensibilidade Antes e Após a Introdução do Novo Tratamento para TB

Para comparar os perfis de sensibilidade das cepas do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* isoladas antes e após a introdução do novo tratamento para TB foi escolhido o período de 2001-2003 para ser comparado com o período de 2011-2013, já sob influência do novo tratamento para TB.

Os perfis de resistência aos fármacos antituberculosstáticos desses dois períodos foram divididos em monorresistência, multirresistência e outros padrões de resistência (Tabela 6).

Tabela 6- Casos de resistência no DF. LACEN/GBM/LMT/SES-DF.

Fármacos	Nº de casos 2001-2003 n=147	Nº de casos 2011-2013 n=171	Total n=318
Casos de Monorresistência			
H	6	6	12
R	2	4	6
S	1	9	10
E	0	0	0
Sub-Total	09 (6,1%)	20 (11,7%)	28(8,8%)
Casos de multirresistência			
R+H	21	8	29
R+H +E	1	2	3
R+H + S	0	0	0
R+H + S+E	2	1	3
Sub-Total	24 (16,3%)	11(6,4%)	35(11,0%)
Outros padrões de resistência			
H +S	01 (0,7%)	01(0,6)	02(0,6%)
Total	34 (23,1)	31 (17,5)	65 (20,4)

A multirresistência bacteriana no período de 2001-2003 com relação ao período de 2011-2013 diminuiu de 24 (16,3%) para 11 (6,4%) e apresentou diferença estatística significativa ($P = 0,0415$) pelo Teste Exato de Fischer com dois intervalos de confiança.

No mesmo período comparado a monorresistência bacteriana aumentou de 9 (6,1%) para 20 (11,7%) devido ao aumento da resistência à estreptomicina com diferença estatística significativa ($P = 0,0157$) pelo Teste Exato de Fischer com dois intervalos de confiança.

5.5 Mutações Genéticas nos Genes *rpoB*, *KatG* e *inhA* no Período de 2011- 2013

Foram analisadas 21 cepas com perfis de resistência para R e H do período de 2011 a 2013. Os primers que foram utilizados para detecção das resistências estão especificados na Tabela 7.

Tabela 7- Primers usados para PCR dos genes de resistência às drogas do *M. tuberculosis*

GENE		Primers (5'-3')
KatG	F	GCAGATGGGGCTGATCTACG
	R	AACGGGTCCGGGATGGTG
InhA	F	AATTGCGCGGTCAGTTCACAC
	R	CTGCGCGATGCCCGTTGAGC
RpoB	F	GTCGCCGCGATCAAGGA
	R	TGACCCGCGCGTACAC

F: primer forward; R: primer reverse

A interpretação dos resultados do kit GenoType MTBDRplus® (Tabela 8) demonstrou que entre os isolados MDR, 100% (10/10) das cepas mostraram ausência da banda *rpoB* WT8 (*rpoB* sonda tipo selvagem) e presença de *rpoB* MUT3 (sonda mutada), o que representa a troca do aminoácido serina pela leucina associada com códon nº 531 do gene *rpoB*, sendo esse gene responsável pela resistência à R. O perfil genotípico da resistência à H demonstrou ser bem mais heterogêneo nesta amostra. Com relação à resistência à H, nove cepas MDR (81,8%) revelaram um padrão de mutação na região do local de ligação ao ribossomo de *inhA* com ausência de WT1 e presença de *inhA* Mut1, que representa uma mudança do aminoácido citosina para timina associada com códon nº 15. Uma cepa MDR (10%) mostrou apenas uma banda de hibridação em *katG* Mut2. Duas cepas MDR (20%) mostraram mutações nos genes

katG (S315T) e inhA (C15T) simultaneamente. A cepa com perfil fenotípico de XDR-TB mostrou ausência da banda rpoB WT8 e presença de rpoB MUT3 e ausência de sondas selvagens em KatG WT e inhA WT2 sem a presença da banda de hibridação na tira da membrana, o que sugere mutações próximas do S315T e S315T2 como também na região do códon T8C e T8A. No entanto, tanto a ausência de uma banda selvagem como a presença de uma banda mutada já é o suficiente para a indicação da resistência à droga avaliada.

Na monorresistência à H, 33,3% (2/6) apresentaram mutação no códon 315 KatG com aparecimento da banda de hibridização KatG MUT1 o que representa a troca do aminoácido serina pela timina no códon 315 do gene KatG, e 66,7% (4/6) das cepas apresentaram mutações no gene inhA, com aparecimento da banda de hibridização inhA Mut1, o que representa a troca do aminoácido citosina para timina associada com o códon nº 15 da região reguladora do gene inhA, que representa a mutação C15T. Nenhuma cepa apresentou mutações nos genes KatG e inhA simultaneamente. Dos isolados com monorresistência à R três apresentaram mutações no gene rpoB MUT3 já descrita nos isolados MDR e uma cepa apresentou mutação no gene rpoB MUT2B responsável pela troca do aminoácido Histidina pela Tirosina no códon 526 (Tabela 9).

Tabela 8 – Correspondência entre as sondas do kit GenoType MTBDRplus® e os seus respectivos gene, códon e mutação. Hain Life Science.

Gene	Códon	Sonda Mutada	Mutação
RpoB	516	RpoB mut1	D516V
	526	RpoB mut2A	H526Y
	526	RpoB mut2B	H526D
	531	RpoB mut3	S531L
KatG	315	KatG mut1	S315T1 AGC-ACC
		KatG mut2	S315T2 AGC-ACA
InhA	8	InhA mut3A	T8C
		InhA mut3B	T8A
	15	InhA mut1	C15T
	16	InhA mut2	A16G

Tabela 9 - Mutações encontradas nas cepas de 2011-2013 analisadas com o kit GenoType MTBDRplus®. LACEN/GBM/LMT/SES-DF.

		Genes mutados									
		KatG		InhA				RpoB			
Drogas	N	S315T1	S315T2	C15T	A16G	T8C	T8A	D516V	H526D	H526Y	S531L
H	6	2	0	4	0	0	0	0	0	0	0
R	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3
MDR	10	2	1	9	0	0	0	0	0	0	10
XDR	1	0*	0*	0	0	0*	0*	0	0	0	1
TOTAL	21	4	1	13	0	0	0	0	0	1	14
%	100	22,2	5,6	72,2	0	0	0	0	0	6,7	93,3

* desaparecimento da banda selvagem sem aparecer a banda mutada

A comparação dos perfis de resistência, utilizando os testes fenotípico e genotípico não demonstrou diferença com relação à susceptibilidade aos tuberculostáticos. Entre os isolados analisados por ambos os métodos, 20 (66,7%) mostraram um padrão idêntico de resistência às drogas; um isolado XDR-TB não foi possível a comparação para estreptomicina e E porque a resistência não é detectada pelo kit GenoType MTBDRplus®, pois o teste possui apenas os genes para as duas principais drogas para o tratamento da TB. As sensibilidades e as especificidades do ensaio GenoType MTBDRplus® para detectar resistência à R e à H foram de 100%. Os resultados para ambos os ensaios (GenoType MTBDRplus® e BACTEC MGIT 960®) foram equivalentes. Os testes de valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) foram 100%.

O tempo médio para a obtenção de resultados do teste de resistência molecular foi de 21 dias, incluindo os 18 dias para o crescimento da cultura bacteriana e mais 3 dias para a realização do ensaio GenoType MTBDRplus®, comparado com os 15 dias para o teste de sensibilidade realizado pelo BACTEC MGIT 960®. O intervalo médio para a apresentação dos resultados foi de 43,2 dias (IQR 31-52) para o teste de sensibilidade convencional e 19,8 dias (IQR 9-26) para o ensaio GenoType MTBDRplus® a partir de isolados de cultura (P <0,05).

6 DISCUSSÃO

A eficácia e a segurança das 4-DFC *versus* DS para o tratamento da TB pulmonar foram verificadas na literatura por meio da realização da revisão sistemática com meta-análise que recuperou apenas cinco ensaios clínicos randomizados (ECRs), todos eles realizados em países com alta incidência de TB. Os resultados da meta-análise sugerem que o tratamento com 4-DFC não demonstrou benefícios na negatização da cultura após dois ou seis meses de tratamento em relação à DS. Também não houve diferença estatística significativa em relação à taxa de abandono e à segurança verificada pelo número de efeitos adversos relatados pelos pacientes submetidos aos dois tratamentos. Nenhum dos estudos analisados verificou a adesão dos pacientes aos tratamentos e apenas um (Bartacek *et al.*, 2009) analisou a satisfação desses em relação às terapias comparadas.

Apesar do potencial para fornecer o mais alto nível de evidência em pesquisas de intervenção terapêutica, ECRs têm sido criticados por causa da generalização limitada dos seus resultados. Esses ensaios que são muitas vezes conduzidos sob condições médicas ideais, podem subestimar o benefício potencial da intervenção terapêutica em locais onde imperícia ou terapias não monitoradas são comuns. Entretanto, apesar dessa limitação, diferenças significantes nas terapias foram encontradas em muitos ECRs analisados (Haynes, 2008). Para uma melhor estimativa da eficácia do tratamento, ensaios clínicos pragmáticos podem ser mais adequados, uma vez que são realizados em condições mais próximas à prática clínica habitual (Chalkidou, 2012; Tunis, 2003).

A caracterização dos casos de TB no DF evidenciou que se trata de uma das Unidades Federadas com menor incidência da doença no país. Sua alta taxa de encerramento dos casos por cura e baixa letalidade são próximas à meta recomendada pela OMS (Brasil, 2014). No entanto, há uma tendência de diminuição da cura influenciada pelo aumento das transferências. Os indicadores distritais se aproximam daqueles dos Estados de Tocantins e Goiás, mas diferem substancialmente dos Estados de Amazonas e Rio de Janeiro, que possuem uma taxa de incidência de TB até seis vezes maiores (Brasil, 2014). No período analisado os indicadores do DF para TB se mantiveram constantes, (WHO, 2014), enquanto o Brasil, nos últimos dez anos, reduziu em 22,8% a incidência de casos novos de TB e em 20,7% a taxa de mortalidade da doença (Brasil, 2015b).

Como a coinfeção TB/HIV tem grande importância clínica (Post *et al.*, 2015), a baixa realização do teste verificada neste estudo mostra que a recomendação da OMS para testagem

de HIV em 100% dos casos diagnosticados ou suspeitos de TB (WHO, 2007) ainda não foi alcançada no DF (Brasil, 2015a). Espera-se que esses números aumentem consideravelmente com a implantação do teste rápido para detecção do HIV. Conhecer o estado sorológico para HIV permite descrever a tendência da TB após a pandemia do HIV, como por exemplo o aumento da forma extrapulmonar (Brunello *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2015)

Apesar de a baciloscopia ser um exame rápido, barato e com boa especificidade para o diagnóstico da TB, sua realização ainda fica abaixo do esperado, como verificado neste estudo, tanto com relação ao diagnóstico como para o acompanhamento do tratamento, sendo que este último não pode ser substituído por técnicas moleculares até o momento (Brasil, 2007).

A análise do perfil de sensibilidade das cepas do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* identificadas no LACEN-DF nos anos de 2001 a 2013 constatou que a maioria das cepas resistentes aos tuberculostáticos era de pacientes do sexo masculino, na faixa etária de 21-40 anos e que apresentavam a forma pulmonar de TB. A elevada ocorrência de TB resistente em homens na faixa etária de maior produtividade concorda com estudos nacionais e internacionais (WHO, 2011; Piller, 2012).

As cepas com perfis de resistências aos tuberculostáticos isoladas no LACEN-DF são exemplos de resistência secundária, ou seja, amostras de pacientes já submetidos ao tratamento para TB - suspeita de recidiva ou retratamento. Enquanto no mundo a taxa média de multirresistência secundária é de 20,5% (WHO, 2014), no DF essa taxa foi de 7,7% no período estudado, apresentando-se, portanto, bem inferior à taxa mundial. Como foi observado um número muito menor de MDR-TB registrados no SINAN em relação ao verificado pelo LACEN-DF, pois o caso MDR-TB é encerrado no SINAN e aberto no SITETB. A comparação dos dados do SINAN, SITETB e LACEN-DF tem algumas divergências influenciada pelas transferências tanto na entrada dos casos como no encerramento. No entanto, esse paciente, ao buscar atendimento ou trabalhar no DF, pode disseminar a MDR-TB. Existe também a possibilidade de subnotificação do paciente pelas unidades responsáveis, tendo em vista que no início do período analisado ainda havia unidades com dificuldades de acesso ao SINAN e havia uma falta de integração com o SITETB.

Avaliando os dados do II Inquérito Brasileiro de Resistência aos Tuberculostáticos, realizado no período de 2007-2008, envolvendo 4.421 pacientes, a taxa de MDR-TB adquirida foi de 7,5%. Para a monorresistência adquirida à H foi de 15,3% e à R, de 8%,

(Kritski, 2010a). Neste estudo toda a resistência era do tipo adquirida, com 7,7% de MDR-TB, 1,3% para monorresistência à R e 4,8% para H.

Analisando o perfil de resistência aos tuberculostáticos no DF antes e após a introdução do novo tratamento para TB, pôde-se observar um declínio da MDR-TB com diferença estatística significativa entre os dois momentos. Houve uma diminuição de 9,9 pontos percentuais no período analisado, o que representa significativo aumento das chances de cura do paciente utilizando medicamentos com menos efeitos adversos quando comparados com o esquema de tratamento para MDR-TB e com um custo muito menor para o estado (Ferreira *et al.*, 2013). Nesse mesmo ano o DF apresentou taxas de incidência de 13,5/100 mil habitantes para todas as formas de TB e de 5,5/100 mil habitantes para os casos bacilíferos, a menor dentre as 27 Unidades da Federação e três vezes menor do que a média nacional, de 37,1/100 mil habitantes (WHO, 2014).

A monorresistência aumentou devido a uma elevação da resistência à estreptomicina. Esse aumento pode sugerir que esteja ocorrendo a reativação endógena por cepas anteriores aos anos da década de 1980, visto que a estreptomicina não é utilizada em casos novos, a não ser em casos de MDR-TB e nos casos de intolerância medicamentosa à H ou R, fato já verificado em estudos realizados na Espanha e na cidade do Rio de Janeiro (Aragó-Galindo *et al.*, 2006; Conde *et al.*, 2009; Bastos *et al.*, 2012).

Os percentuais de monorresistência à R e à H se mantiveram inalterados nos períodos comparados. A taxa média de 1,8% de resistência à R encontrada nesse estudo está próxima ao percentual da Europa Central e Ocidental, onde o nível de resistência à R é de 1,1% (WHO, 2008).

O presente estudo demonstrou uma redução da MDR-TB no período de 2011 a 2013, após a introdução do esquema de tratamento em dose fixa combinada no DF em julho de 2010. Dessa forma, a resistência pode ser atribuída primariamente à prescrição inadequada ou não adesão do paciente ao tratamento (Nackers *et al.*, 2012; Akilimali *et al.*, 2015), embora a variabilidade farmacocinética dos tuberculostáticos também esteja associada a esse fato (Sotgiu *et al.*, 2015).

A resistência aos fármacos é resultado de mutações genéticas aleatórias em algum gene (Zimenkov *et al.*, 2014). Como a demora na identificação da resistência aos fármacos e no início do tratamento efetivo contribui para altas taxas de mortalidade (50-80%) com um curto período entre o diagnóstico e a morte (Uys, Warren e Van Helden, 2007; Sharma *et al.*, 2014; Sotgiu *et al.*, 2015), ensaios moleculares para detecção de resistência aos

tuberculostáticos feitos em algumas horas podem revolucionar o diagnóstico laboratorial da TB, que por técnicas tradicionais é muito lento.

Com o intuito de fortalecer o diagnóstico da TB no Brasil, o MS em 2014 distribuiu 160 equipamentos Genexpert[®], capazes de detectar a presença do bacilo causador da doença em duas horas e também identificar a resistência à R em 640 mil amostras por ano (Brasil, 2015a; Drobniewski *et al.*, 2015). Como a monorresistência à R é relativamente rara e sua detecção serve como um marcador para MDR-TB (Bodmer e Ströhle, 2012), com essa tecnologia é possível agilizar o diagnóstico da TB e da resistência à R no nível primário de assistência à saúde, possibilitando o rápido encaminhamento do paciente com TB resistente para a atenção secundária (Brasil, 2014).

O teste GenoType MTBDRplus[®], rápido e confiável para detecção das mais comuns e frequentes mutações nos genes responsáveis pela resistência à R e à H, diagnostica a MDR-TB em um tempo muito menor que as técnicas tradicionais (Mindru *et al.*, 2014). Neste estudo, com a utilização do kit GenoType MTBDRplus[®] foram identificadas as mutações presentes nos genes *rpoB*, *KatG* e *inhA*, responsáveis pela resistência à R e H.

A mutação responsável pela resistência a R ocorrem em um sítio chamado RDRR (região determinante de resistência à R) de 81pb, localizado entre os códons 507 e 533 do gene *rpoB*, sendo os códons 531 (Ser), 526 (His) e 526 (Asp) os principais locais de mutações (Hofling *et al.*, 2005; Lipin *et al.*, 2007; Gomes *et al.*, 2012; Perizzolo *et al.*, 2012). Essa mutação ocorre em 95-98% das cepas resistentes. A mutação S531L foi observada em 75% dos casos, seguida pela mutação H561Y nos demais casos. A alta frequência da mutação S531L é também a mais relatada por outros estudos realizados em diferentes países (Telenti *et al.*, 1993; Somoskovi *et al.*, 2001; Bai *et al.*, 2007; Asante-Poku *et al.*, 2015; Aung *et al.*, 2015).

Mutações nos genes *KatG* e *inhA*, responsáveis pela resistência à H, foram associadas com aproximadamente 70% a 80% dos isolados de CMTB resistentes à H (Cardoso *et al.*, 2004). Embora tal resistência seja mais complexa devido à implicação do número maior de genes, até 95% dessa resistência pode ser atribuída a mutações no gene *KatG* (Seifert *et al.*, 2015). Estudos recentes examinaram a frequência relativa de mutações nos genes *katG* e *inhA* em isolados resistentes à H e encontraram considerável variação geográfica, com frequência de 0,8% de mutação em *inhA* (sem *katG*) na Etiópia, 4% na Polônia, 9,6% em Chongqing, China, e 22% nas Filipinas (Herrera *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2011; Abate *et al.*, 2014; Jagielski *et al.*, 2015). A prevalência de mutações nos genes *KatG* e *inhA* parece variar

amplamente em diferentes localizações geográficas: enquanto um estudo relatou 97% das mutações em KatG e 24% no gene *inhA* nos isolados resistentes à H de Kwazulu-Natal (Niehaus *et al.*, 2015), outro relatou 72% de mutações no gene *katG* e 2% de mutações no gene *inhA* nos isolados resistentes à H no Cabo Ocidental (Van Rie *et al.*, 1999), ambas províncias da África do Sul. Diversos estudos de outros países confirmaram essa variabilidade na contribuição das diferentes mutações associadas à resistência à H (Brossier *et al.*, 2009; Chikamatsu *et al.*, 2011; Drobniewski *et al.*, 2015). Neste estudo todas as cepas com resistência à H tiveram suas mutações identificadas nos genes *KatG* e *inhA*, com 27,8% e 72,3%, respectivamente. A mutação S315T1 foi a mutação mais frequente associada ao gene *KatG* concordando com estudos nacionais e internacionais (Silva *et al.*, 2003 Seifert *et al.*, 2015). A mutação em *inhA* estava relacionada com mutações no códon 15 sendo esta mutação associada a cepas monorresistentes (Liu *et al.*, 2015)

Os resultados fenotípicos e genotípicos encontrados neste trabalho concordam com estudos nacionais e internacionais que apontam a vantagem decorrente da significativa redução do tempo para o diagnóstico da TB (Chikamatsu *et al.*, 2011; Asencios *et al.*, 2012; Perizzolo *et al.*, 2012; Nosova *et al.*, 2013).

Na Rússia, um estudo concluiu que a utilização de cultura em meio líquido (MGIT 960) e métodos moleculares são custo-efetivos e podem ser introduzidos com sucesso em um laboratório de referência, desde que seja seguido um adequado planejamento logístico assim como um protocolo de descontaminação e treinamento cuidadosos (Balabanova *et al.*, 2009).

Como limitações do presente estudo pôde-se citar a dificuldade de se obter informações completas sobre os pacientes uma vez que as amostras que chegam ao LACEN-DF não traziam informações sócio-demográficas e muitos não estavam devidamente registrados no SINAN assim como a falta de acesso ao SIITE-TB. Outra limitação é o curto período de tempo após a mudança do tratamento para se evidenciar uma tendência abrindo perspectivas para que novos estudos semelhantes sejam realizados no futuro.

7 CONCLUSÕES

A revisão sistemática com meta-análise comparando as duas terapias (4-DFC *versus* DS) mostrou as mesmas eficácia e segurança para ambas. A terapia 4-DFC provocou menos efeitos colaterais gastrointestinais que as DS. Os estudos selecionados não avaliaram a adesão à farmacoterapia e o custo-efetividade dos tratamentos, sugerindo desta forma estudos de farmacovigilância e ensaios clínicos pragmáticos. Sugere-se, ainda, que a adoção de inovações tecnológicas deve ser articulada com a melhoria dos serviços de atenção primária para a obtenção dos resultados esperados.

Analisando os casos de TB no DF pôde-se observar que os dados do SINAN para o agravo não diferem dos demais estados com relação às características sexo, idade, forma clínica e comorbidades. Apesar de ter uma das menores taxas de incidência de TB do país, com uma alta taxa de cura e baixa taxa de abandono do tratamento, sem mudanças significativas ao longo dos anos, a realização de baciloscopias para diagnóstico e acompanhamento do tratamento, a realização de culturas e a testagem para o HIV estavam abaixo do recomendado pelo MS.

A maioria das amostras com perfil de resistência eram de origem pulmonar e foram encaminhadas por unidades hospitalares. As taxas de resistência secundária aos tuberculostáticos de primeira linha no período de 2001 a 2013 foram de 4,8% à H, 1,3% à R e 4,7% à S, sendo também identificadas taxas de 7,7% de MDR-TB, 0,7% de XDR-TB e de 0,7% de outras resistências.

A taxa de multirresistência secundária, que caiu de 16,3% para 6,4% após a adoção do novo tratamento, indica que os pacientes têm maior chance de cura com a utilização de medicamentos com menos efeitos tóxicos e de menor custo para o Estado. A monorresistência à Z aumentou, sugerindo uma possível reativação endógena por cepas anteriores à década de 1980.

As mutações genéticas que conferem resistência à R e à H foram identificadas pelo novo teste. A resistência à R era conferida pela mutação no gene *rpoB* presente em 100% dos isolados analisados, sendo 93,3% detectadas no códon 531 e as demais, no códon 526. A resistência à H foi em decorrência de mutações nos genes *inhA* e *KatG*, estando as primeiras presentes em 72,2% das cepas, todas localizadas no códon 15. As demais mutações ocorreram no códon 315 do gene *KatG*.

A acurácia do ensaio GenoType MTBDRplus® no DF para a detecção da resistência à R e à H foi confirmada quando comparada aos testes de sensibilidade convencionais com um tempo de resposta na detecção da resistência à R e à H reduzido.

Em decorrência dos resultados encontrados neste trabalho o ensaio GenoType MTBDRplus® foi incluído na rotina do LACEN-DF para o diagnóstico precoce e controle da MDR-TB no DF, trazendo benefícios substanciais para o rápido diagnóstico da TB e do seu perfil de resistência. Além disso, a partir de 2013 passou a ser realizado em todas as amostras positivas para CMTB o teste de sensibilidade aos tuberculostáticos buscando a identificação da resistência primária, sendo também estabelecido novo fluxo de informações entre o LACEN-DF e o Programa de Controle da TB do DF com o objetivo de prevenir a subnotificação dos casos com resistência no SINAN.

REFERÊNCIAS

- ABATE, D. *et al.* **Isoniazid and rifampicin resistance mutations and their effect on second-line anti-tuberculosis treatment.** Int J Tuberc Lung Dis, v. 18, n. 8, p. 946-51, Aug 2014. ISSN 1027-3719.
- ABUBAKAR, I. *et al.* **Drug-resistant tuberculosis: time for visionary political leadership.** Lancet Infect Dis, v. 13, n. 6, p. 529-39, Jun 2013. ISSN 1473-3099.
- AGUILAR, R. *et al.* **Results of a national study on anti-mycobacterial drug resistance in El Salvador.** Int J Tuberc Lung Dis, v. 9, n. 5, p. 514-20, May 2005. ISSN 1027-3719. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15875922> >. Acesso em: 04 jan. 2014.
- AKILIMALI, P. Z. *et al.* **Therapeutic outcomes of anti-tuberculosis treatment in the context of HIV-tuberculosis co-infection: Cohort of Kabinda Center in Kinshasa, Democratic Republic of Congo.** Rev Epidemiology Sante Publique, Nov 4 2015. ISSN 0398-7620.
- ALLEN, M. *et al.* **Mechanisms of control of *Mycobacterium tuberculosis* by NK cells: Role of Glutathione.** Front Immunol, v. 6, p. 508, 2015. ISSN 1664-3224.
- AMARAL, E. P.; LASUNSKAIA, E. B.; D'IMPERIO-LIMA, M. R. **Innate immunity in tuberculosis: how the sensing of mycobacteria and tissue damage modulates macrophage death.** Microbes Infect, Sep 11 2015. ISSN 1286-4579.
- ARAGÓ-GALINDO, M. *et al.* **Anti-tuberculosis drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in the area of the Hospital de Sagunto from 1999 to 2004.** Rev. Clín. Esp., v. 206, n. 8, p. 376-81, Sep. 2006. ISSN 0014-2565. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16863622> >. Acesso em: 04 jan. 2014.
- ARANAZ, A. *et al.* ***Mycobacterium tuberculosis* subsp. caprae subsp. nov: a taxonomic study of a new member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex isolated from goats in Spain.** Int J Syst Bacteriol, v. 49 Pt 3, p. 1263-73, Jul 1999. ISSN 0020-7713.
- ARBEX, M.A. *et al.* **Drogas antiTB: interações medicamentosas, efeitos adversos e utilização em situações especiais. Parte 1: Fármacos de primeira linha.** J. Bras. Pneumol. 36(5):626-40, 2010.
- ASANTE-POKU, A. *et al.* **Evaluation of GenoType MTBDRplus® for the rapid detection of drug-resistant tuberculosis in Ghana.** Int J Tuberc Lung Dis, v. 19, n. 8, p. 954-9, Aug 2015. ISSN 1027-3719.
- ASENCIOS, L. *et al.* **Molecular test Genotype(R) MTBDRplus, an alternative to rapid detection of multidrug resistance tuberculosis.** Rev. Peru Med. Exp. Salud Publica, v. 29, n. 1, p. 92-8, Mar 2012. ISSN 1726-4634.
- ATIF, M. *et al.* **Duration of treatment in pulmonary tuberculosis: are international guidelines on the management of tuberculosis missing something?** Public Health, v. 129, n. 6, p. 777-82, Jun 2015. ISSN 1476-5616. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25999175> >. Acesso em: 04 nov. 2015.
- AUNG, W. W. *et al.* **Phenotypic and genotypic analysis of anti-tuberculosis drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Myanmar.** Ann Lab Med, v. 35, n. 5, p. 494-9, Sep 2015. ISSN 2234-3806.

BAI, G. H. *et al.* **Trend of anti-tuberculosis drug resistance in Korea, 1994-2004.** Int J Tuberc Lung Dis, v. 11, n. 5, p. 571-6, May 2007. ISSN 1027-3719.

BALABANOVA, Y. *et al.* **An integrated approach to rapid diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance using liquid culture and molecular methods in Russia.** PLoS One, v. 4, n. 9, p. e7129, 2009. ISSN 1932-6203.

BARTACEK A, *et al.* **Comparison of a four-drug fixed-dose combination regimen with a single tablet regimen in smear-positive pulmonary tuberculosis.** FDC Study Group. Int J Tuberc Lung Dis.13:760-766, 2009.

BASTOS, G. M. *et al.* **Prevalence of primary drug resistance in pulmonary tuberculosis patients with no known risk factors for such.** J Bras Pneumol, v. 38, n. 6, p. 733-9, 2012 Nov-Dec 2012. ISSN 1806-3756. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23288118> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

BEHR, M.A. **Correlation between BCG genomics and protective efficacy.** Scand. J. Infect. Dis. 33:249-52.4, 2001.

BLUMBERG, H. M. *et al.* **American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America: treatment of tuberculosis.** Am J Respir Crit Care Med, v. 167, n. 4, p. 603-62, Feb 2003. ISSN 1073-449X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12588714> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

BODMER, T.; STRÖHLE, A. **Diagnosing pulmonary tuberculosis with the Xpert MTB/RIF test.** J Vis Exp, n. 62, p. e3547, 2012. ISSN 1940-087X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22508485> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

BORGDORFF, M. W.; CAIN, K. P.; DECOCK, K. M. **The molecular epidemiology of tuberculosis in settings with a high HIV prevalence: implications for control.** J Infect Dis, v. 211, n. 1, p. 8-9, Jan 2015. ISSN 1537-6613. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25053740> >. Acesso em: 04 nov. 2015.

BOTHA, F. J. *et al.* **Early bactericidal activity of ethambutol, pyrazinamide and the fixed combination of isoniazid, rifampicin and pyrazinamide (Rifater) in patients with pulmonary tuberculosis.** S Afr Med J, v. 86, n. 2, p. 155-8, Feb 1996. ISSN 0256-9574. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8619142> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

BRASIL. **Taxa de mortalidade por TB cai 20,7% em 10 anos.** 2015b. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/saude/2015/03/taxa-de-mortalidade-por-TB-cai-20-7-em-10-anos>> acesso em 03 dez. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Detectar, tratar e curar: desafios e estratégias brasileiras frente à TB.** Boletim Epidemiológico 46(9), 2015a. Disponível em: < <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/marco/27/2015-007---BE-TB---para-substitui---o-no-site.pdf> > Acesso em: 03 dez. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Programa nacional de controle da TB. **Nota técnica sobre as mudanças no tratamento da TB no Brasil para adultos e adolescentes.** s.l., 2011. 2 p. BRASIL. Portal da saúde. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1527> Acesso em: 02 set 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Panorama da TB no Brasil Indicadores epidemiológicos e operacionais.**

2014. Disponível em: < <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/novembro/24/panorama-TB-brasil-out14-web.pdf>> acesso em: 03 dez. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. **Boletim epidemiológico AIDS-DST**. Brasília: 2010. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2010/45974/vers_o_final_15923.pdf>. Acesso em: 27 ago. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da TB e outras Micobactérias**. Brasília, 2008. 436p, il. (Série A. Normas e manuais técnicos)

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Sistema de informação de tratamentos especiais de tuberculose**. Disponível em: < <http://sitetb.saude.gov.br/index.html>>. Acesso em: 21 nov. 2015c.

BROSCH, R. *et al.* **A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex**. Proc Natl Acad Sci USA 99: 3684-89, 2002.

BROSSIER, F. *et al.* **Performance of MTBDR plus for detecting high/low levels of *Mycobacterium tuberculosis* resistance to isoniazid**. Int J Tuberc Lung Dis, v. 13, n. 2, p. 260-5, Feb 2009. ISSN 1027-3719. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19146757> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

BRUNELLO, M. E. *et al.* **Areas of vulnerability to HIV/TB co-infection in Southeastern Brazil**. Rev Saude Publica, v. 45, n. 3, p. 556-63, Jun 2011. ISSN 1518-8787. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21484011> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

CAMINERO, J. A. **Management of TB suspected cases of drug resistant *tuberculosis* requiring a second treatment**. Biomedica, v. 24 Supp 1, p. 212-27, Jun 2004. ISSN 0120-4157. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15495588> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

CANETTI, G. *et al.* **Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity and the use of sensitivity tests in *tuberculosis* control programmes**. Bull. WHO, 41:21-43, 1969.

CARDOSO, R. F. *et al.* **Screening and characterization of mutations in isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates obtained in Brazil**. Antimicrob Agents Chemother, v. 48, n. 9, p. 3373-81, Sep 2004. ISSN 0066-4804.

CASAL, C. *et al.* **Effect of the inoculation site of bovine purified protein derivative (PPD) on the skin fold thickness increase in cattle from officially *tuberculosis* free and *tuberculosis*-infected herds**. Prev Vet Med, v. 121, n. 1-2, p. 86-92, Sep 1 2015. ISSN 0167-5877.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION **TREATMENT OF TUBERCULOSIS**. American Thoracic Society, CDC, and Infectious Diseases Society of America. MMWR52(No. RR-11): 1-82. Erratum: MMWR 005, 53(51&52): 1195-222. 2003.

CHANDRA, P. *et al.* ***Mycobacterium tuberculosis* inhibits RAB7 recruitment to selectively modulate autophagy flux in macrophages**. Sci Rep, v. 5, p. 16320, 2015. ISSN 2045-2322.

CHALKIDOU K. *et al.* **The role for pragmatic randomized controlled trials (pRCTs) in comparative effectiveness research**. Clin Trials.9:436-446. 2012.

- CHIKAMATSU, K. *et al.* **Evaluation of GenoType MTBDRplus for the detection of multi-drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains.** Kekkaku, v. 86, n. 7, p. 697-702, Jul 2011. ISSN 0022-9776.
- CHUNG, K.T.; BIGGERS, C.J. **Albert Léon Charles Calmette (1893-1933) and the antituberculous BCG vaccination.** Perspectives in Biology and Medicine, v. 44, p. 379-389, 2001.
- CONDE, M. B. *et al.* **III Brazilian Thoracic Association Guidelines on tuberculosis.** J Bras Pneumol, v. 35, n. 10, p. 1018-48, Oct 2009. ISSN 1806-3756. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19918635>>. Acesso em: 04 jan. 2014.
- COSTA, N.R. **Lutas urbanas e controle sanitário: origens das políticas de saúde no Brasil.** 2. ed. Petrópolis: Vozes; 1986.
- COSTA, M. *et al.* **TB: uma revisão de literatura.** REFACER-Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres, v. 1, n. 2, 2013. ISSN 2317-1367.
- COUSINS, D. V. *et al.* **Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium pinnipedii* sp. nov.** Int J Syst Evol Microbiol, v. 53, n. Pt 5, p. 1305-14, Sep 2003. ISSN 1466-5026.
- CURRY, F. J. **Drug-resistant tuberculosis: a survival guide for clinicians,** 2nd ed., pp. 2-122, 2008
- DALCOLMO, M. P. **Tratamento da TB sensível e resistente.** Pulmão RJ, v. 21, n. 1, p. 55-59, 2012.
- DIRLIKOV, E.; RAVIGLIONE, M.; SCANO, F. **Global tuberculosis control: toward the 2015 targets and beyond.** Ann Intern Med, v. 163, n. 1, p. 52-8, Jul 7 2015. ISSN 0003-4819.
- DROBNIIEWSKI, F. *et al.* **Systematic review, meta-analysis and economic modelling of molecular diagnostic tests for antibiotic resistance in tuberculosis.** Health Technol Assess, v. 19, n. 34, p. 1-188, vii-viii, May 2015. ISSN 1366-5278.
- DROBNIIEWSKI, F. A. *et al.* **PHLS mycobacteriology reference services in England and Wales.** Commun Dis Rep CDR Rev, v. 7, n. 8, p. R106-9, Jul 1997. ISSN 1350-9349. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9256530>>. Acesso em: 04 jan. 2014.
- DUARTE, R. **Tuberculin skin test. How to optimise?** Rev Port Pneumol, v. 15, n. 2, p. 295-304, 2009 Mar-Apr 2009. ISSN 0873-2159. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19280074>>.
- DUCATI, R. G. *et al.* **The resumption of consumption -- a review on tuberculosis.** Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 101, n. 7, p. 697-714, Nov 2006. ISSN 0074-0276. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17160276>>. Acesso em: 04 jan. 2014.
- DYE, C. *et al.* **Trends in tuberculosis incidence and their determinants in 134 countries.** Bulletin of the World Health Organization, v. 87, p. 683-691, 2009. ISSN 0042-9686.
- ELLARD, G. A.; FOURIE, P. B. **Rifampicin bioavailability: a review of its pharmacology and the chemotherapeutic necessity for ensuring optimal absorption.** Int. J. Tuberc. Lung Dis. 3(11, Suppl 3): S301-8, 1999.
- FERREIRA, A. C. *et al.* **Clinical treatment outcomes of tuberculosis treated with the basic regimen recommended by the Brazilian National Ministry of Health using fixed-dose combination tablets in the greater metropolitan area of Goiânia, Brazil.** J Bras Pneumol, v. 39, n.

1, p. 76-83, 2013 Jan-Feb 2013. ISSN 1806-3756. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23503489> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

FINKBEINER, A. K. **Quite contrary: was "Typhoid Mary" Mallon a symbol of the threats to individual liberty or a necessary sacrifice to public health?** *Sciences (New York)*, v. 36, n. 5, p. 38-43, 1996 Sep-Oct 1996. ISSN 0036-861X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11657398> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

FRIEDEN, T. R. *et al.* **A road map to control malaria, tuberculosis, and human immunodeficiency virus/AIDS.** *Arch Intern Med*, v. 169, n. 18, p. 1650-2, Oct 2009. ISSN 1538-3679. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19822819> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

GETAHUN, H. *et al.* **Management of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: WHO guidelines for low tuberculosis burden countries.** *Eur Respir J*, Sep 2015. ISSN 1399-3003. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26405286> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

GOESSENS, W.H.F. *et al.* **Comparison of the Cobas Amplicor MTB and BD ProbeTec ET assays for detection of *M. tuberculosis* in respiratory specimens.** *J. of Clin. Microb.* v. 43, p. 2563-66, 2005.

GOMES, H. M. *et al.* **Spoligotypes of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates from patients residents of 11 states of Brazil.** *Infect Genet Evol*, v. 12, n. 4, p. 649-56, Jun 2012. ISSN 1567-1348.

GOODFELLOW, M.; MAGEE, J.G. **Taxonomy of *Mycobacterium*.** In: *Mycobacteria I Basic Aspects v. I*. New York: Chapman and Hall Medical Microbiology Series, v.1, p. 99-126, 1997.

GUIMARÃES, R. M. *et al.* **Tuberculosis, HIV, and poverty: temporal trends in Brazil, the Americas, and worldwide.** *J Bras Pneumol*, v. 38, n. 4, p. 511-7, 2012 Jul-Aug 2012. ISSN 1806-3756. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22964936> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

GUNES, A. *et al.* **Clinical, radiological and laboratory findings in 185 children with tuberculous meningitis at a single centre and relationship with the stage of the disease.** *Ital J Pediatr*, v. 41, n. 1, p. 75, 2015. ISSN 1720-8424.

GUTIERREZ, M. C.; SUPPLY, P.; BROSCHE, R. **Pathogenomics of mycobacteria.** *Genome Dyn*, v. 6, p. 198-210, 2009. ISSN 1660-9263. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19696503> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

HAIN LIFESCIENCE. **GenoType MTBDRplus - Your Test System for a Fast and Reliable Way to detect MDR-TB. 2015.** Disponível em: < <http://www.hain-lifescience.de/en/products/microbiology/mycobacteria/genotype-mtbdplus.html> >. Acesso em: 03 nov. 2015.

HERRERA, L. *et al.* **Molecular characterization of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical strains isolated in the Philippines.** *Int J Antimicrob Agents*, v. 23, n. 6, p. 572-6, Jun 2004. ISSN 0924-8579.

HERVE, C. *et al.* **Tuberculosis in 2015: From diagnosis to the detection of multiresistant cases.** *Rev Mal Respir*, Jul 10 2015. ISSN 0761-8425.

HIJJAR, M.A. *et al.* **Epidemiologia da TB: importância no mundo, no Brasil e no Rio de Janeiro.** *Pulmão RJ*, v.14, n.4, p.310-14, 2005.

HILL, P. C. *et al.* **Risk factors for defaulting from tuberculosis treatment: a prospective cohort study of 301 cases in the Gambia.** *Int J Tuberc Lung Dis*, v. 9, n. 12, p. 1349-54, Dec 2005. ISSN

1027-3719. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16466057> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

HILLEMANN, D.; RUSCH-GERDES, S.; RICHTER, E. **Evaluation of the GenoType MTBDRplus assay for rifampin and isoniazid susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical specimens.** J Clin Microbiol, v. 45, n. 8, p. 2635-40, Aug 2007. ISSN 0095-1137.

HOFLING, C. C. *et al.* **Prevalence of katG Ser315 substitution and rpoB mutations in isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Brazil.** Int J Tuberc Lung Dis, v. 9, n. 1, p. 87-93, Jan 2005. ISSN 1027-3719.

HUEBNER, R. E.; SCHEIN, M. F.; BASS, J. B., JR. **The tuberculin skin test.** Clin Infect Dis, v. 17, n. 6, p. 968-75, Dec 1993. ISSN 1058-4838.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo demográfico 2010 IBGE.** Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?lang=&sigla=df>

ISMAIL, N. A. *et al.* **Optimizing Mycobacterial Culture in Smear-Negative, Human Immunodeficiency Virus-Infected Tuberculosis Cases.** PLoS One, v. 10, n. 11, p. e0141851, 2015. ISSN 1932-6203.

JAGIELSKI, T. *et al.* **Mutation profiling for detection of isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates.** J Antimicrob Chemother, Aug 25 2015. ISSN 0305-7453.

JAMAL, L.F.; MOHERDAUI, F. **TB e infecção pelo HIV no Brasil: magnitude do problema e estratégias para o controle.** Rev. Saúde Pública. 41(supl. 1): 104-10, 2007.

JIAO, W. *et al.* **Molecular characteristics of rifampin and isoniazid resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains from Beijing, China.** Chin. Med. J. 120(9): 814-9, 2007.

KONEMAN, E.W. *et al.* **Diagnóstico microbiológico, texto e atlas colorido.** 5.ed. São Paulo: p. 903-63, 2006.

KRITSKI, A. L. **Emergência de TB resistente: renovado desafio.** Jornal Brasileiro de Pneumologia, v. 36, p. 157-158, 2010a. ISSN 1806-3713.

KRITSKI, A. L. **The experience of the Brazilian Tuberculosis Research Network in the development and evaluation of new methods of diagnosing tuberculosis.** Rev Port Pneumol, v. 16SA, p. S67-76, Jan 2010b. ISSN 0873-2159. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25965933> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

KRITSKI, A.L.; CONDE, M.B.; de SOUZA, G.R.M. **TB: do ambulatório à enfermaria.** São Paulo: Atheneu, 2000.

LALVANI, A. *et al.* **Human cytolytic and interferon gamma-secreting CD8+ T lymphocytes specific for *Mycobacterium tuberculosis*.** Proc Natl Acad Sci U S A, v. 95, n. 1, p. 270-5, Jan 6 1998. ISSN 0027-8424.

LANNOY, L. H. *et al.* **Tuberculosis incidence and risk factors among patients living with HIV/AIDS in public health service institutions in Brasilia, Federal District.** Rev Soc Bras Med Trop, v. 41, n. 6, p. 549-55, 2008 Nov-Dec 2008. ISSN 1678-9849. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19142430> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

LERNER, T. R.; BOREL, S.; GUTIERREZ, M. G. **The innate immune response in human tuberculosis.** Cell Microbiol, v. 17, n. 9, p. 1277-85, Sep 2015. ISSN 1462-5814.

LIPIN, M. Y. *et al.* **Association of specific mutations in katG, rpoB, rpsL and rrs genes with spoligotypes of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Russia.** Clin Microbiol Infect, v. 13, n. 6, p. 620-6, Jun 2007. ISSN 1198-743X.

LIPSKY, B.A. *et al.* **Factors affecting the clinical value of microscopy for acid-fast bacilli.** Clinical Infectious Diseases, v. 6(2), p. 214-22, 1984.

LIU, E. *et al.* **Tuberculosis incidence rate and risk factors among HIV-infected adults with access to antiretroviral therapy.** AIDS, v. 29, n. 11, p. 1391-9, Jul 2015. ISSN 1473-5571. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26091295> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

LODDENKEMPER, R. *et al.* **Strategies against multidrug-resistant tuberculosis.** Eur. Respir. J. Suppl, 36, pp. 66-77, 2002.

LÖNNROTH, K. *et al.* **Tuberculosis control and elimination 2010–50: cure, care, and social development.** The Lancet, v. 375, n. 9728, p. 1814-1829, 2009 Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60483-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60483-7) >. Acesso em: 10 Nov. 2015.

MANI, N. *et al.* **Mutation in rpoB gene of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from India.** J. Clin. Microbiol. 39(8):2987-90, 2001.

MARAIS, B. J. *et al.* **Scale-up of services and research priorities for diagnosis, management, and control of tuberculosis: a call to action.** Lancet, v. 375, n. 9732, p. 2179-91, Jun 2010. ISSN 1474-547X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20488521> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

MARKS, G.L. Genetics of *Tuberculosis*. In: BASS, J.B. **Tuberculosis.** The Medical clinics of North America. v. 77; p. 1219-33, 1993.

MCGUINNESS, F.; HAMILTON, D.; AL NABULSI, **Journal Clinical imaging in non-pulmonary tuberculosis.** Berlin; New York: Springer, 192 p. 2000. ISBN 9783540659402 (hardcover alk. paper)

MEIRELLES, BHS; CHIRINOS, NEC. **Fatores associados ao abandono do tratamento da tuberculose: uma revisão integrativa.** Texto Contexto Enferm, v. 20 n.3, p: 599-606, 2011.

METCHOCK, B.G.; NOLTE, F.S.; WALLACE, R.J. *Mycobacterium*. p.399-437. In MURRAY, P. R. *et al.* **Manual of clinical microbiology**, 7th ed. Washington, D.C.: ASM Press, 1999.

MILTGEN, J. *et al.* **Two cases of pulmonary tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis* subsp canetti.** Emerg Infect Dis, v. 8, n. 11, p. 1350-2, Nov 2002. ISSN 1080-6040.

MINDRU, R. *et al.* **Conventional and molecular diagnosis in a group of patients with drug-resistant tuberculosis.** Pneumologia, v. 63, n. 3, p. 168-73, 2014 Jul-Sep 2014. ISSN 2067-2993. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25420292> >. Acesso em: 04 jan. 2014.

MITCHISON, D.; DAVIES, G. **The chemotherapy of tuberculosis: past, present and future.** International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, v. 16, n. 6, p. 724-732, Jun 2012. ISSN 1027-3719. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000304580400005 >.

MORGAN, M.A.; HORSTMEIER, C.D.; DEYOUNG, D.R.; ROBERTS, G.D. **Comparison of a radiometric method (BACTEC) and conventional culture media for recovery of mycobacteria from smear-negative specimens.** Journal of Clin. Microb. v. 8(2), p. 384–8, 1983.

MULU, W. *et al.* **Risk factors for multidrug resistant tuberculosis patients in Amhara National Regional State.** Afr Health Sci, v. 15, n. 2, p. 368-77, Jun 2015. ISSN 1729-0503. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26124781> >. Acesso em: 04 nov. 2015.

NACKERS, F. *et al.* **Adherence to self-administered tuberculosis treatment in a high HIV-prevalence setting: a cross-sectional survey in Homa Bay, Kenya.** PLoS One, v. 7, n. 3, p. e 32140, 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22427820> >. Acesso em: 04 nov. 2015.

NIEHAUS, A. J. *et al.* **High Prevalence of inhA Promoter Mutations among Patients with Drug-Resistant Tuberculosis in KwaZulu-Natal, South Africa.** PLoS One, v. 10, n. 9, p. e0135003, 2015. ISSN 1932-6203.

NIEMANN, S.; RICHTER, E.; RUSCH-GERDES, S. **Differentiation among members of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by molecular and biochemical features: evidence for two pyrazinamide-susceptible subtypes of *M. bovis*.** Journal of Clin Microbiol, v. 38, n. 1, p. 152-7, Jan 2000. ISSN 0095-1137.

NOSOVA, E. *et al.* **Comparing performance of "TB-BIOCHIP", "Xpert MTB/RIF" and "genotype MTBDRplus" assays for fast identification of mutations in the *Mycobacterium tuberculosis* complex in sputum from TB patients.** Mol Biol (Mosk), v. 47, n. 2, p. 267-74, Mar-Apr 2013. ISSN 0026-8984.

PALOMINO, J.C. **Nonconventional and new methods in the diagnosis of tuberculosis: feasibility and applicability in the field.** Eur.Resp. J., v. 26, p. 339-50, 2005.

PATRA, S. *et al.* **Profile and treatment outcomes of elderly patients with tuberculosis in Delhi, India: implications for their management.** Trans R Soc Trop Med Hyg, v. 107, n. 12, p. 763-8, Dec 2013. ISSN 1878-3503. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24189479> >. Acesso em: 04 nov. 2015.

PERIZZOLO, P. F. *et al.* **Characteristics of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in southern Brazil.** Tuberculosis (Edinb), v. 92, n. 1, p. 56-9, Jan 2012. ISSN 1472-9792.

PERUHYPE, R. C. *et al.* **The distribution of tuberculosis in Porto Alegre: analysis of the magnitude and tuberculosis-HIV coinfection.** Rev Esc Enferm USP, v. 48, n. 6, p. 1035-43, Dec 2014. ISSN 0080-6234. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25626503> >. Acesso em: 04 nov. 2015.

PETERSON, E.M. *et al.* **Comparison of direct and concentrated acid-fast smears to identify specimens culture positive for *Mycobacterium* spp.** J. of Clin. Microb. v. 37, p. 3564-8, 1999.

POST, J. J. *et al.* **HIV testing rates and co-infection among patients with tuberculosis in south-eastern Sydney, 2008-2013.** Med J Aust, v. 202, n. 5, p. 255-7, Mar 16 2015. ISSN 0025-729x.

PROTTI, S. T. *et al.* **Managing the basic health unit in tuberculosis control: a field of challenges.** Rev Esc Enferm USP, v. 44, n. 3, p. 665-70, Sep 2010. ISSN 0080-6234. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20964042> >. Acesso em: 04 nov. 2015.

RAMASWAMI, S.; MUSSER, JM. **Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in *Mycobacterium tuberculosis*.** Update. Tuberc. Lung Dis. 79(1):3-29, 1998.

RANAIVOMANANA, P. *et al.* **Study of the BCG Vaccine-Induced Cellular Immune Response in Schoolchildren in Antananarivo, Madagascar.** PLoS One, v. 10, n. 7, p. e0127590, 2015. ISSN 1932-6203.

RAO, M. *et al.* **B in TB: B Cells as Mediators of Clinically Relevant Immune Responses in Tuberculosis.** Clin Infect Dis, v. 61Suppl 3, p. S225-34, Oct 15 2015. ISSN 1058-4838.

- RAVIGLIONE, M. *et al.* **Rebalancing the global battle against tuberculosis.** Lancet Glob Health, v. 2, n. 2, p. e71-2, Feb 2014. ISSN 2214-109X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25104659> >. Acesso em: 04 nov. 2015.
- ROCHA, J.L. *et al.* **TB multirresistente.** Pulmão RJ 17(1):27-32, 2008.
- ROM, W. N.; GARAY, S. ***M. tuberculosis***. 2nd. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. V. 16, p 944. ISBN 9780781736787
- SBARBARO, J.; BLOMBERG, B.; CHAULET, P. **Fixed-dose combination formulations for tuberculosis treatment.** Int J Tuberc Lung Dis, v. 3, n. 11 Suppl 3, p. S286-8, Nov 1999. ISSN 1027-3719. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10593706> >. Acesso em: 04 nov. 2015.
- SCHIRM, J.; OOSTENDORP, L.A.; MULDER, J.G. **Comparison of Amplicor, in-house PCR, and conventional culture for detection of *M. tuberculosis* in clinical samples.** Journal of Clin. Microbiology, v. 33(12), p. 3221-4, 1995.
- SEIFERT, M. *et al.* **Genetic Mutations Associated with Isoniazid Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: A Systematic Review.** In: MOKROUSOV, I. (Ed.). PLoS One. San Francisco, CA USA, v.10, 2015. ISBN 1932-6203 (Electronic).
- SHARMA, S. *et al.* **Genotype MTBDR plus assay for molecular detection of rifampicin and isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*.** Indian J Pathol Microbiol, v. 57, n. 3, p. 423-6, 2014 Jul-Sep 2014. ISSN 0974-5130. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25118735> >. Acesso em: 04 nov. 2015.
- SILVA, M. S. N. *et al.* **Mutations in katG, inhA and ahpC genes of Brazilian isoniazid-resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis*.** J. Clin. Microbiol. 2003, 41(9):4471-4.
- SMITH, N. H. *et al.* **Myths and misconceptions: the origin and evolution of *Mycobacterium tuberculosis*.** Nat Rev Microbiol, v. 7, n. 7, p. 537-44, Jul 2009. ISSN 1740-1534. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19483712> >. Acesso em: 04 nov. 2015.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. **III Diretrizes brasileiras para TB.** J. Bras. Pneumol. 35(10):1018-48, 2009.
- SOMOSKOVI, A. *et al.* **The molecular basis of resistance to isoniazid, rifampin, and pyrazinamide in *Mycobacterium tuberculosis*.** Resp. Res. 2:164-8, 2001.
- SOTGIU, G. *et al.* **Therapeutic drug monitoring: how to improve drug dosage and patient safety in tuberculosis treatment.** Int J Infect Dis, v. 32, p. 101-4, Mar 2015. ISSN 1201-9712.
- STAGER, C.E. *et al.* **Role of solid media when used in conjunction with the BACTEC system for mycobacterial isolation and identification.** Journal of Clin. Microbiology, v. 29(1), p. 154-7, 1991.
- SULIS, G. *et al.* **Tuberculosis: epidemiology and control.** Mediterr J Hematol Infect Dis, v. 6, n. 1, p. e2014070, 2014. ISSN 2035-3006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25408856> >. Acesso em: 04 nov. 2015.
- TELENTI, A. *et al.* **Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*.** Lancet, v. 341, n. 8846, p. 647-50, Mar 13 1993. ISSN 0140-6736.
- TOUNGOUSSOVA, O. S. *et al.* **Spread of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains of the Beijing genotype in the Archangel Oblast Russia.** J. Clin. Microbiol. 40(6):1930-7, 2002.

TUNIS SR, STRYER DB, CLANCY CM. **Practical clinical trials:** Increasing the value of clinical research for decision making in clinical and health policy. JAMA.290:1624-1632. 2003.

TUPIN, A. *et al.* **Resistance to rifampicin: at the crossroads between ecological, genomic and medical concerns.** Int J Antimicrob Agents, v. 35, n. 6, p. 519-23, Jun 2010. ISSN 0924-8579.

UNICAMP. Faculdade de Ciências Médicas. Departamento de Anatomia Patológica. Site didático de Anatomia Patológica, Neuropatologia e Neuroimagem. Disponível em: <<http://anatpat.unicamp.br/laminfl15.html>> Acesso em: 03 dez. 2015.

UYS, P. W.; WARREN, R. M.; VAN HELDEN, P. D. **A Threshold Value for the Time Delay to TB Diagnosis.** PLoS ONE, v. 2, n. 8, p. e757, 2007. Disponível em: <<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0000757>>.

VALIM, A.R. *et al.* **Evaluation and genotyping of multidrug-resistant cases of tuberculosis in southern Brazil.** Microb. Drug Resist. 12(3):186-91, 2006.

VAN RIE, A. *et al.* **Transmission of a multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strain resembling "strain W" among noninstitutionalized, human immunodeficiency virus-seronegative patients.** J Infect Dis, v. 180, n. 5, p. 1608-15, Nov 1999. ISSN 0022-1899.

VAN SOOLINGEN, D. *et al.* **Diagnosis of *Mycobacterium microti* infections among humans by using novel genetic markers.** J Clin Microbiol, v. 36, n. 7, p. 1840-5, Jul 1998. ISSN 0095-1137.

WANG, F. *et al.* **Molecular characterization of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates circulating in China by multilocus PCR and electrospray ionization mass spectrometry.** J Clin Microbiol, v. 49, n. 7, p. 2719-21, Jul 2011. ISSN 1098-660X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21525214>>. Acesso em: 04 nov. 2015.

WANG, Q. *et al.* **Molecular epidemiology and clinical characteristics of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in a tuberculosis referral hospital in China.** PLoS One, v. 9, n. 10, p. e110209, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25302501>>. Acesso em: 04 nov. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial resistance: global report on surveillance.** Genebra, 2014. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf> acesso em: 03 dez. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Anti-tuberculosis Drug Resistance in the World.** Fourth Global Report. Genebra, 2008. Disponível em:<http://www.who.int/TB/publications/2008/drs_report4_26feb08.pdf> acesso em: 03 dez. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis control - epidemiology, strategy, financing.** Genebra: World Health Organization; 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing.**Genebra: World Health Organization; 2009.

World Health Organization. **Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing.** Genebra, 2005 Disponível em: <<http://library.cphs.chula.ac.th/Ebooks/AnnualReport/TB/TB2005.pdf>> acesso em: 03 dez. 2014

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report**. Genebra, 2015. Disponível em: < http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059_eng.pdf?ua=1> acesso em: 03 dez. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis emergency**, 2011 update. Disponível em < http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501583_eng.pdf?ua=1> Acesso em 25 ago. 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report: Treatment outcomes**,. Genebra, 2014. Disponível em: < http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/137094/1/9789241564809_eng.pdf> acesso em: 03 dez. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Tuberculosis Care with TB-HIV Co-management - Integrated Management of Adolescent And Adult Illness (IMAI)** Genebra, 2007. Disponível em: < http://www.who.int/hiv/pub/imai/TB_HIVModule23.05.07.pdf?ua=1> acesso: em 02 dez. 2015.

WRIGHT, A. *et al.* **Epidemiology of antituberculosis drug resistance 2002-07: an updated analysis of the Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance**. Lancet, v. 373, n. 9678, p. 1861-73, May 2009. ISSN 1474-547X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19375159>>. Acesso em: 04 nov. 2015.

ZIELONKA, T. M. **Tuberculosis challenge to medicine in 21st century**. Wiad Lek, v. 68 Spec No, p. 3-7, 2015. ISSN 0043-5147.

ZIMENKOV, D. V. *et al.* **Analysis of genetic determinants of multidrug and extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* using oligonucleotide microchip**. Mol Biol (Mosk), v. 48, n. 2, p. 251-64, Mar-Apr 2014. ISSN 0026-8984.

APÊNDICE

ARTIGO DE REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE

Efficacy and safety of a four drug fixed-dose combination regimen versus separate drugs for treatment of pulmonary *tuberculosis*: a systematic review and meta-analysis

Glaura C. Lima.^{a#}, Emilia V. Silva.^b Pérola de O. Magalhães.^c Janeth O. S. Naves.^{c*}

^aMycobacterial Section, Department of Medical Biology, Central Laboratory of Public Health - Brasilia, Federal District, Brazil

^bFaculty of Ceilandia, University of Brasilia, Brasilia, Federal District, Brazil

^c Department of Pharmacy, Health Science School, University of Brasilia, Brasilia, Federal District, Brazil

Running Head: Efficacy and safety of the new treatment of TB

#Address correspondence to Glaura R. C. C. Lima: glauracaldo@gmail.com

*Present address: Janeth S. Naves: Department of Pharmacy, Health Science School University of Brasilia, Campus Darcy Ribeiro, Asa Norte - Brasilia, Federal District, Brazil. 70910-900

E.V.S; P.O.M and J.S.N. contributed equally to this work.

Abstract

Tuberculosis (TB) continues to be a major cause of morbidity and mortality worldwide and the multi-drug resistant TB is a threat to the world in need of measures to be avoided. As far as we know there are no studies in the literature assessing only the four drugs combined in the treatment of *tuberculosis*, which is of great clinical relevance. Objectives: To determine whether four drug fixed-dose combination (4-FDC) is more effective and safer than the separate drugs (SD) for the treatment of pulmonary *tuberculosis*. Methods: This review was conducted in accordance with Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines for reporting systematic. Results: In five randomized controlled trials with 3502 patients across Africa, Asia and Latin America based on pooled results of RCTs 4-FDC therapy was no better than SD in culture conversion after 2 months of treatment, or the end of 6 months of treatment. There were not significantly different between the groups in the safety available by adverse effects (AEs) and default. The meta-analytic measure (log OR) revealed that the SD treatment has a 1.65 ($\exp(0.5) = 1.65$) increased chance of the occurrence of gastrointestinal (AEs) compared to the 4-FDC treatment. Conclusions: All the studies reviewed showed that 4-FDC therapy provides greater patient comfort by reducing the number of pills that are taken and gastrointestinal AEs, besides simplifying pharmaceutical management at all levels.

EFICÁCIA E SEGURANÇA DE QUATRO DROGAS EM DOSE FIXA COMBINADA VERSUS DROGAS SEPARADAS PARA O TRATAMENTO DA TB PULMONAR: REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE

A tuberculose (TB) continua sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade mundial, e a TB multirresistente uma ameaça para o mundo. Até presente momento não foi encontrado na literatura estudos avaliando somente as quatro drogas combinadas no tratamento, o que é de grande relevância clínica. Objetivos: Determinar se quatro drogas em dose fixa combinada (4-DFC) é mais eficaz e segura que as drogas separadas (SD) para o tratamento de TB pulmonar. Métodos: realizou-se uma revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados seguindo as regras do PRISMA e uma meta-análise. Resultados: Foram selecionados cinco ensaios clínicos randomizados com 3.502 pacientes da África, Ásia e América Latina. Com base nos resultados analisados a meta-análise sugere que a terapia 4-DFC não foi melhor que a terapia SD na conversão da cultura após 2 meses de tratamento nem ao final de 6 meses de tratamento. A segurança foi avaliada pelos eventos adversos nos dois grupos e não foi significativamente diferente entre eles, assim como a taxa de abandono. A medida meta-analítica (log OR) revelou que a terapia SD tem 1,65 maior probabilidade de ocorrência de eventos adversos gastrointestinais em comparação com o tratamento 4-DFC. Conclusões: Todos os estudos revisados mostraram que a terapia 4-DFC proporciona maior conforto ao paciente tanto pela redução do número de comprimidos que são ingeridos como pela diminuição dos efeitos adversos gastrointestinais, além de simplificar a gestão farmacêutica em todos os níveis.

INTRODUCTION

Tuberculosis (TB) continues to be a major cause of morbidity and mortality worldwide, with 9 million new cases of TB diagnosed and 1.5 million deaths recorded globally in 2013 and approximately 95% of the estimated number of TB cases occur in low-income countries (WHO, 2014). In particular, 82% of these cases are concentrated in 22 countries, among which Brazil ranks 17th (WHO, 2014). This TB burden is increased by human immunodeficiency virus (HIV) infection, which impairs the immune system and allows progression to active TB disease in large numbers of people (Skrahin, 2014).

The global burden of drug-resistant TB is growing. In 2010, estimated 650,000 cases of drug-resistant TB were reported worldwide (WHO, 2012). In Brazil, the incidence of resistance increased, according to data obtained in the Second Brazilian National Survey on Anti-TB Drug Resistance 2007–2008 (MS, 2009). In 2014, Brazil launched a large nationwide sentinel system to monitor drug resistance (WHO, 2015). Alongside the rising prevalence of drug-resistant TB, there has been an increase in the spread of cases due to direct contact with drug-resistant TB patients. Consequently, drug-resistant TB has become an epidemic in its own right, especially in high-burden settings (Keshavjee and Farmer, 2010; WHO, 2015). Multidrug resistance remains a threat to TB control. It is generally accepted that the development of drug-or multidrug-resistant (MDR) TB is caused by inadequacies in the treatment, such as inadequacies in the number of drugs in the regimen to which the bacilli are susceptible, the dose or dosing frequency, the drug quality, or the treatment adherence (Wright, 2009; WHO, 2012; Malangu, 2015).

Fixed-dose combinations (FDC) of drugs for TB treatment have been advocated internationally to prevent the emergence of drug resistance attributable to inappropriate drug intake (Union, 1988; Ferreira, 2013). The use of FDC can reduce the risk of an incorrect dosage, simplify drug procurement, and aid in ensuring adherence without changing the drug dosage. In 2010, the Brazil's National TB Programme decided to alter the traditional anti-TB treatment (2RHZ/RH regimen) of rifampicin (R), isoniazid (H) and pyrazinamide (Z) for 2 months, followed by R and H for 4 months. In the new 2RHZE/4RH regimen, a fourth drug (ethambutol- EMB) was added to the intensive phase of TB treatment. Capsules containing R and H, administered with Z tablets, were replaced by FDC tablets containing R, H, Z and EMB. The aims of this new approach were to increase treatment adherence and prevent drug resistance (Blomberg and Fourie 2003).

However, over the years, problems have been found with the quality of the 2RHZE/4RH regimen, such as a reduced bioavailability of R, instability of the formulation, toxic/allergic adverse effects (AEs), and development of resistance. Several studies have been conducted to assess the bioavailability, acceptability, and microbiological efficacy of R and H, with or without Z, administered as a FDC for daily or intermittent use (Acocella, 1988; Su and, Perng, 2002; Gohel and Sarvaiya, 2007; Bhutani, 2004; Hiremath and Saha, 2008). However, in patients with newly diagnosed TB, the use of four drugs in fixed-dose combination (4-FDC) in the first 2 months of treatment has not been assessed for safety and efficiency relative to the administration of separate drugs (SDs). To frame recent studies within the broader evidence base, we systematically reviewed randomized clinical trials (RCTs) that provided clinical data regarding the efficacy and safety of 4-FDC drugs in the treatment of pulmonary TB. This study aimed to show if the administration of 4-FDC is more effective and safer than SD for the treatment of pulmonary TB.

METHODS

This review was conducted in accordance with Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines for reporting systematic reviews (Moher, 2009). The protocol for this review was recorded on May 23rd, 2013 in the International Register of Prospective Systematic Reviews (PROSPERO) under registration no. CRD42013003217.

Search strategy and selection criteria. Articles were searched in the following databases: Cumulative Index to Nursing and Allied Health Literature (CINAHL - <http://www.cinahl.com>), Cochrane Library (<http://www.update-software.com/cochrane>), Literatura Latino Americana em Ciencias da Saude (Latin American and Caribbean Health Science Literature Database (LILACS database), Latin American and Caribbean Literature in Health Sciences; LILACS; <http://lilacs.bvsalud.org/>), MEDLINE (<http://www.nlm.nih.gov>), Scientific Electronic Library Online (SciELO; <http://www.scielo.br>), Scopus (<http://www.scopus.com>), Web of Science(<http://www.webofknowledge.com>), Science Direct (<http://www.sciencedirect.com>), ExcerptaMedica Database (EMBASE; <http://www.embase.com>), CAPES Theses Database and public domain internet databases (<http://www.periodicos.capes.gov.br>). All databases were searched from inception until September 10, 2013, articles in English, French, and Spanish. We sought to compare the results from RCTs involving patients with newly diagnosed TB who were administered a 4-

FDC or SD regimen in the first 2 months of treatment for pulmonary TB. Therefore, a search strategy was developed by combining the following search terms: *tuberculosis*; *treatment*; and *rifampicin*; and *isoniazid*; and *ethambutol*; and *pirazinamide*; and not *HIV*, as exploded Medical Subject Headings (MeSH) and free-text terms. Additionally, abstracts from the following conferences until September 2013 were searched: Union World Conference on Lung Health, Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Society of General Microbiology, British Thoracic Society, European Respiratory Society, and the American Thoracic Society. Bibliographies of all relevant articles were also reviewed.

Data extraction and management. Two independent reviewers (GCL and EVS). A third reviewer resolved disagreements (JSN) selected studies. Efficacy and safety of the treatment were the primary and secondary outcomes, respectively. Treatment outcomes were recorded according to adapted definitions of those given in WHO guidelines (WHO, 2010), as follows: treatment success, defined as the number of patients who were cured or who completed combined treatment; default, defined as failure of the patient to attend the healthcare service for over 30 consecutive days after the scheduled return date; and safety, defined as the number of AEs.

The quality of studies was assessed with the Jadad scale (Jadad, 1998). A predefined data extraction form (in EXCEL) was used to extract data from each study selected for review. The following information was recorded: study characteristics, including authors, setting, study design, and hospitalization; patient characteristics, including age, population, availability of drug susceptibility testing, sputum conversion and default rates at the beginning and end of treatment, observed AEs, previous TB regimens, HIV status, and other comorbidities; treatment characteristics, including the number of patients receiving 4-FDC and SD, and treatment outcomes.

Data analysis. When possible, statistical calculations were performed with the R software package, version 3.1.1 (www.r-project.org). Because all evaluated outcome measures were dichotomous, odds ratios (ORs) were calculated, with the uncertainty of the result expressed by the estimate of the 95% confidence interval (CI) around this measure. Individual studies were grouped by either the fixed-or random-effects method, depending on the results of the test for homogeneity. Homogeneity among studies was evaluated by the Cochran Q test, with $P > 0.05$ indicating statistically significant data homogeneity.

RESULTS

Study selection results. The search strategy retrieved 438 potential articles (Fig. 1). Two articles, one published in Mandarin and one in German, were excluded due to language. One article was excluded for failure to meet the criteria of an RCT. Eight articles were screened as full-text articles, and five articles were subsequently analyzed (Bartacek, 2009; Gravendeel, 2003; Lienhardt, 2011; Su and Perng, 2002; Zaka, 2008). All studies were conducted and published in countries with a high incidence of TB. The five studies that were considered for analysis included 3,502 patients across Africa, Asia and Latin America.

Study and patient characteristics. Study and treatment characteristics are summarized in Table 1. All studies were RCTs. Of the 3,502 included patients, 2,072 were men (59.2%). Only three studies detailed the mean patient age, with the result of 35 ± 15.3 years. In one study, patients were randomly assigned to three groups (A, B, C): patients in groups A and B were given 4-FDC, and patients in group C were given SD formulations (Zaka, 2008). Patients in the other studies were randomized in to two groups (4-FDC and SD). All patients in the studies received a 4-FDC during the intensive phase of treatment.

Two studies provided information regarding HIV status (Bartacek, 2009; Lienhardt, 2011). In one study (Lienhardt, 2011), 77 of the 1,168 patients (6.6%) were HIV positive. In another included study (Bartacek, 2009), only six out of 1,159 patients (0.5%) were HIV positive (one in the FDC group, five in the SD group). In four studies, clinical efficacy was also monitored by regular chest X-rays (Bartacek, 2009; Lienhardt, 2011; Su and Perng, 2002; Zaka, 2008).

Two studies provided data from drug sensitivity tests (Lienhardt, 2011; Su and Perng, 2002). In one study (Su and Perng, 2002), four patients in the FDC group and six patients in the SD group had *PZA-resistant bacilli*. Two patients in the SD group had EMB-resistant bacilli. In another study (Lienhardt, 2011), 1,132 patients (573 FDC, 559 SD) were tested for drug sensitivity. Fully sensitive organisms were identified in 508 FDC patients (88.2%) and 497 SD patients (88.9%). Non-multidrug-resistant, H-resistant isolates were observed in 65 FDC patients (11.3%) and 62 SD patients (11.1%).

Only one study evaluated or reported weight gain, a decrease in the erythrocyte sedimentation rate, and an increase in hemoglobin in the initial and continuation phases of therapy (Zaka, 2008). In another study, one patient in the FDC group (1/51, 2%) experienced bacterial relapse after 5 months of successful completion of the initial course of treatment (Su and Perng, 2002).

Adverse events. Table 2 summarizes the AEs reported by the included studies. The most common AEs were gastrointestinal disorders (nausea, vomiting), which were reported by all studies. However, dermatological, rheumatologic, and hepatic problems, and even death, were cited. All studies found that the difference between the 4-FDC and SD groups in the overall number of drug-related AEs was no longer significant after general disorders were excluded. Three studies reported patient death. One study (Lienhardt, 2011) reported eight deaths, which were most likely (2/591 in FDC and 2/579 in SD group) or possibly due to TB (2/591 in FDC and 2/579 in SD group). In another study, only one death was reported, which was in the SD group (Zaka, 2008). Bartacek *et al.* (2009) reported 15 deaths (11 in the FDC and 4 in the SD group), but only two of them (two hepatitis cases, both in the FDC group) were considered to be drug-related (Bartacek, 2009).

One study reported less frequent muscle-joint effects during the intensive phase of treatment in a patient receiving the FDC regimen (Gravendeel, 2003). Only one study evaluated patient acceptability of medication, in terms of taste, number of tablets, and problems with swallowing. The paper reported significantly improved patient acceptability of the regimen in the 4-FDC group (Bartacek, 2009).

Study quality. To evaluate the methodological quality of included trials, a Jadad scale based on three questions was used. Scores greater than 3 are indicative of high-quality studies, and scores of 2 or less are indicative of low-quality studies (Jadad, 1998). Three studies had a high-quality score, and two studies were considered low quality.

Treatment outcomes. A meta-analysis was developed for each variable in the study. Tested variables included the following: the rate of sputum conversion in the initial phase of treatment (assessed within 2 months of treatment initiation), the sputum conversion in the final phase of treatment, the default, the number of patients with AEs, and the number of patients with gastrointestinal AEs. For each variable, the following null hypothesis was tested:

H0: The event of interest (variable) has the same chance of occurring in both treatment groups (4-FDC and SD).

For the analysis of the rate of sputum conversion in the initial phase of treatment (≤ 2 months), all five studies collected related data and were considered in the analysis. The fixed-effects model was chosen because heterogeneity was not identified ($P = 0.3169$). The null hypothesis was not rejected ($P = 0.4922$), suggesting that no statistical evidence exists that the rate of sputum conversion in the initial phase of treatment is different between the treatment groups. A forest plot (Fig. 2) showed that the 95% CI range for the log OR contained zero

(log OR: -0.09, 95% CI: -0.37–0.18), indicating that the OR between treatments is statistically equal to one. Therefore, the meta-analysis results do not reveal a statistically significant difference between the 4-FDC and SD treatments in terms of the rate of sputum conversion in the initial phase of treatment (≤ 2 months).

For the analysis of sputum conversion in the final phase of treatment, one study (Zaka, 2008) did not collect related data and was excluded from the analysis. The fixed-effects model was chosen because heterogeneity was not identified ($P = 0.98$). The null hypothesis was not rejected ($P = 0.5037$), suggesting that no statistical evidence exists that the sputum conversion in the final phase of treatment is different between the treatment groups. A forest plot (Fig. 3) showed that the 95% CI range for the log OR contained zero (log OR: 0.14, 95% CI: -0.27–0.54), indicating that the OR between treatments is statistically equal to one. Therefore, the meta-analysis results do not reveal a statistically significant difference between the 4-FDC and SD treatments in terms of the sputum conversion in the final phase of treatment.

For the analysis of default, one study (Zaka, 2008) did not collect related data and was excluded from the analysis, and it's not possible to contact the authors. The fixed-effects model was chosen because heterogeneity was not identified ($P = 0.0775$). The null hypothesis was not rejected ($P = 0.9092$), suggesting that no statistical evidence exists that the default is different between the treatment groups. A forest plot (Fig. 4) showed that the 95% CI range for the log OR contained zero (log OR: 0.05, 95% CI: -0.82–0.92), indicating that the OR between treatments is statistically equal to one. Therefore, the meta-analysis results do not reveal a statistically significant difference between the 4-FDC and SD treatments in terms of default.

For the analysis of the number of patients with AEs, two studies (Su and Perng, 2002; Gravendeel, 2003) did not collect related data and were excluded from the analysis, in spite of all reasonable attempts to contact the authors of these studies to obtain such data. The random-effects model was chosen because heterogeneity was identified ($P = 0.0246$ and $I^2 = 75.85\%$). The null hypothesis was not rejected ($P = 0.4091$), suggesting that no statistical evidence exists that the number of patients with AEs is different between the treatment groups. A forest plot (Fig. 5) showed that the 95% CI range for the log OR contained zero (log OR: 0.24, 95% CI: -0.32–0.79), indicating that the OR between treatments is statistically equal to one. Therefore, the meta-analysis results do not reveal a statistically significant difference between the 4-FDC and SD treatments in terms of the number of patients with AEs.

For the analysis of the number of patients with gastrointestinal AEs, all five studies collected related data and were included in the analysis. The fixed-effects model was chosen because heterogeneity was not identified ($P = 0.5656$). The null hypothesis was rejected ($P = 0.0006$), suggesting that statistical evidence exists that the chance of occurrence of gastrointestinal AEs is different between the treatment groups. A forest plot (Fig. 6) showed that the 95% CI range for the log OR did not contain zero (log OR: 0.50, 95% CI: 0.22–0.79), indicating that the OR between treatments is statistically different from one. The meta-analytic measure (log OR) revealed that the SD treatment has a 1.65 ($\exp(0.5) = 1.65$) increased chance of the occurrence of gastrointestinal AEs compared to the 4-FDC treatment.

DISCUSSION

On the basis of the pooled results of the RCTs, 4-FDC therapy failed to show benefits over the SD regimen in culture conversion after 2 or 6 months of treatment. However, the results did not demonstrate complete inferiority of the FDC compared with single drugs given separately when using the strict definition applied in this review. Except for one study that identified better treatment satisfaction (Bartacek, 2009), none of the included studies identified improved patient adherence among TB patients treated with 4-FDC compared to those treated with SD formulations.

Most of the side effects that were reported by the studies in this review were not considered to be serious and could be managed through symptomatic palliation in both groups of patients (4-FDC and SD). Even in a study that reported 176 patients (86%) with at least one adverse effect associated with treatment, only two abandoned it because of them (Leimane, 2005). Gastrointestinal side-effects such as diarrhea and malabsorption can hinder achievement of optimum blood concentrations of *antituberculosis* drugs in co-infected patients with HIV (Zumla, 2015), what suggest that 4-FDC therapy, for causing less gastrointestinal side-effects, would benefit those co-infected patients. As some patients reported stopping medication because of adverse effects (Munro, 2007), while others reported that they were not informed about side effects and what to do to counter them (Jaiswal, 2003; Edginton, 2002; Wares, 2003).

Specifically, no ophthalmic AEs (ocular toxic effects) were reported that could be associated with the new drug (EMB). In fact, retrobulbar optic neuritis, the main adverse reaction to EMB, is rare in the doses and exposure times commonly used for TB treatment (CDC 2003).

Despite the potential for providing the highest level of evidence in therapeutic intervention research, RCTs have been criticized because of the limited generalizability of their results. RCTs are often conducted under optimal medical care and may underestimate the potential benefit of using 4-FDC formulations to enhance adherence in settings where malpractice or unmonitored therapies are common. In spite of this limitation, however, important differences in adherence have been found in many RCTs (Haynes, 2008). For a better estimate of treatment effectiveness, pragmatic clinical trials may be more appropriate as these trials are conducted in a way that more closely resembles usual clinical practice (Chalkidou, 2012; Tunis, 2003).

4-FDC are recommended because drug selection by the patient and consequent monotherapy can be avoided if all drugs are provided in the same tablet (Chalkidou, 2012; Tunis, 2003; Blomberg, 2001; Blomberg, 2003). Furthermore, due to simplified, standardized chemotherapy regimens, 4-FDC facilitate dosage calculation and prevent prescription errors. However, one of the most relevant features of 4-FDC, the prevention of drug resistance, was not addressed in those studies. Nevertheless, based on their similar efficacies, user-friendliness, lower costs, and operational and logistical advantages, generalized use of 4-FDC should continue to be recommended.

One of the limitations of this meta-analysis is that the included studies did not investigate adherence to the prescribed treatment. Moreover, the impact of directly observed treatment (DOT) on the outcomes of TB treatment was not assessed, which resulted in less precise estimates. Another limitation is the inconsistent ascertainment of the time of relapse in the different studies; because of the heterogeneous methods, we did not pool the study results for this variable. In addition, we could not assess mortality as an outcome because this term was defined differently in the studies (all-cause vs. TB-specific mortality), measured over different follow-up periods and, in some studies, was not reported or was not attributed to the treatment group. Finally, small differences in drug concentrations existed between studies.

Regardless of these limitations, this systematic review has several strengths. Lack of significant heterogeneity of the estimates of sputum conversion in the initial and final phases of therapy and of default in the different trials permitted pooling and increased the precision of our results regarding treatment efficacy.

By the end of 2009, Brazil was the only country with a high burden of TB to use a 3-drug treatment regimen. Despite a free-of-charge treatment, the mean default rate was approximately 9.3% and reached 14% in some states¹⁰. In a Brazilian descriptive study based

on prospective data obtained from the medical records of TB patients (>18 years of age) treated with 4-FDC tablets, the obtained cure rates were similar to those obtained with SD, but the rate of treatment abandonment was much higher (17.5%) than that considered appropriate ($\leq 5\%$) (Ferreira, 2013). At the beginning of 2013, a systematic review was published in Canada to evaluate the risk of treatment failure or disease relapse, acquired drug resistance, bacterial conversion after 2 months of treatment, AEs, adherence, and treatment satisfaction associated with treatment of active TB using FDC or SD formulations (Albanna, 2013). This study concluded that, although FDC formulations simplify TB therapy, the current evidence does not indicate that these formulations improve treatment outcomes among patients with active TB. However, Albanna review articles that includes not only the four drug combination used, but also papers that used only two combined drugs therefore differ in the number of retrieved articles and justifies the need for a revision to compare precisely the effect of 4 drugs in a single formulation with drugs administered in separate formulations.

The new 4-FDC regimen was expected to result in lower default rates and higher effectiveness of treatment. An ecological study based on the Brazilian Case Notification Database (SINAN) with the Brazilian municipalities as the analytical unit concluded that municipalities with high TB burden and large populations require special attention while implementing new recommendations (Braga, 2013).

Of the 22 high-burden country, 15 reached or exceeded a treatment success rate of 85% among all new cases in 2012. The six countries that reported lower treatment success rates were Brazil (72%), the Russian Federation (69%, up from 65% in 2011), South Africa (77%), Thailand (81%), Uganda (77%, up from 73% in 2011) and Zimbabwe (81%). In the Russian Federation, improvement of treatment outcomes has been recognized as a high priority by the Ministry of Health and actions to improve it have been defined. These include earlier detection of MDR-TB, earlier enrolment of patients with MDR-TB on second-line treatment, strengthening patient support to improve adherence to treatment (especially among the most socially and economically disadvantaged), and the introduction of a patient-based monitoring system for those with M/XDR-TB and HIV co-infection. The increase in the percentage of patients successfully treated between 2011 and 2012 suggests that these measures may have had a positive effect (WHO, 2014).

CONCLUSION

Among the five variables, only gastrointestinal AEs differed significantly between treatments (SD and 4-FDC), with a meta-analytic measurement equal to 0.50 and a *P*-value of

less than 0.001. As all the studies reviewed showed that 4-FDC therapy provides greater patient comfort by reducing the number of pills that are taken and gastrointestinal AEs, which is the most reported ones by patients, besides simplifying pharmaceutical management at all levels, that therapy showed to be an important evolution in TB treatment. However, the implementation of such therapy must be done with simultaneous pharmacovigilance studies and pragmatic trial designs to simulate real-world clinical practice.

FUNDING

This work has not received any funding.

TRANSPARENCY DECLARATIONS

None to declare

REFERENCES

1. Acocella G, Nonis A, Gialdroni-Grassi G, Grassi C (1988) Comparative bioavailability of isoniazid, rifampin, and pyrazinamide administered in free combination and in a fixed triple formulation designed for daily use in antituberculosis chemotherapy. I. Single-dose study. *Am Rev Respir Dis.* 138:882-885.
2. Albanna AS, Smith BM, Cowan D, Menzies D (2013) Fixed-dose combination antituberculosis therapy: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir Jour.* 42:721-732.
3. Anti-TB regimens of chemotherapy (1988) Recommendations from the Committee on Treatment of the International Union against *Tuberculosis* and Lung Disease. *Bull. Intl. Union Tuberc. Lung Dis.* 63:60-64.
4. Bartacek A, Schutt D, Panosch B, Borek M, Rimstar (2009) FDC Study Group. Comparison of a four-drug fixed-dose combination regimen with a single tablet regimen in smear-positive pulmonary *tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis.* 13:760-766.
5. Bhutani H, Mariappan TT, Singh S (2004) The physical and chemical stability of anti-*tuberculosis* fixed-dose combination products under accelerated climatic conditions. *Int J Tuberc Lung Dis.* 8:1073-1080.
6. Blomberg B, Fourie B (2003) Fixed-dose combination drugs for *tuberculosis*: application in standardised treatment regimens. *Drugs.* 63: 535–53.
7. Blomberg B, Spinaci S, Fourie B, Laing R (2001) The rationale for recommending fixed-dose combination tablets for treatment of *tuberculosis*. *Bull World Health Organ.* 79:61-68.
8. Braga JU, da Conceicao DA, Trajman A (2013) Factors associated with the rapid implementation process of the fixed-dose combination RHZE *tuberculosis* regimen in Brazil: an ecological study. *BMC Public Health* 13:321.
9. Brazil, Ministry of Health Presentation NTCP; 2011. [cited 2012 July 18], Available from: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/apres_padrao_25_01_11_site.pdf. (15 November 2013, date last accessed).
10. Centers for Disease Control and Prevention (2003) Treatment of *Tuberculosis*, American Thoracic Society, CDC, and Infectious Diseases Society of America. *MMWR* 52(No. RR-11): 1-82. Erratum: *MMWR* 005;53(51&52): 1195-222.

11. Chalkidou K, Tunis S, Whicher D, Fowler R, Zwarenstein M (2012) The role for pragmatic randomized controlled trials (pRCTs) in comparative effectiveness research. *Clin Trials*.9:436-446.
12. Conde MB, Melo FA, Marques AM, Cardoso NC, Pinheiro VG, Dalcin Pde T, Machado Junior A, Lemos AC, Netto AR, Durovni B, Sant'Anna CC, Lima D, Capone D, Barreira D, Matos ED, Mello FC, David FC, Marsico G, Afiune JB, Silva JR, Jamal LF, Telles MA, Hirata MH, Dalcolmo MP, Rabahi MF, Cailleaux-Cesar M, Palaci M, Morrone N, Guerra RL, Dietze R, Miranda SS, Cavalcante SC, Nogueira SA, Nonato TS, Martire T, Galesi VM, Dettoni Vdo V; BTA Committee on *Tuberculosis* (2009) III Brazilian Thoracic Association Guidelines on *tuberculosis*. *Jour Bras Pneumol*.35:1018-1048.
13. Ferreira AC, Silva Junior JL, Conde MB, Rabahi MF (2013) Clinical treatment outcomes of *tuberculosis* treated with the basic regimen recommended by the Brazilian National Ministry of Health using fixed-dose combination tablets in the greater metropolitan area of Goiania, Brazil. *J Bras Pneumol*.39(1): 76-83.
14. Gohel MC, Sarvaiya KG (2007) A novel solid dosage form of rifampicin and isoniazid with improved functionality. *AAPS PharmSciTech*.8:E68.
15. Gravendeel JM, Asapa AS, Becx-Bleumink M, Vrakking HA (2003) Preliminary results of an operational field study to compare side-effects, complaints and treatment results of a single-drug short-course regimen with a four-drug fixed-dose combination (4FDC) regimen in South Sulawesi, Republic of Indonesia. *Tuberculosis (Edinb)*.83:183-186.
16. Haynes RB, Ackloo E, Sahota N, McDonald HP, Yao X (2008) Interventions for enhancing medication adherence. *Cochrane Database Syst Rev*.2:CD000011.
17. Hiremath PS, Saha RN (2008) Oral matrix tablet formulations for concomitant controlled release of anti-tubercular drugs: design and in vitro evaluations. *Int J Pharm*.362:118-125.
18. Jadad AR Randomized Controlled Trials (1998) BMJ Books, , [Accessed 2013Oct 3] Available from: <http://www.bmjpub.com/rct/maex.html>.
19. Keshavjee S, Farmer PE (2010) Picking up the pace--scale-up of MDR *tuberculosis* treatment programs. *N Engl J Med*.363:1781-1784.
20. Lienhardt C, Cook SV, Burgos M, Yorke-Edwards V, Rigouts L, Anyo G, Kim S, Jindani A, Enarson D, Nunn A (2011) Efficacy and safety of a 4-drug fixed-dose combination regimen compared with separate drugs for treatment of pulmonary *tuberculosis*: the Study C randomized controlled trial. *JAMA*.305:1415-1423.

21. Malangu N, Mngomezulu M (2015) Evaluation of *tuberculosis* infection control measures implemented at primary health care facilities in Kwazulu-Natal province of South Africa. *BMC Infect Dis.*15:117.
22. Ministry of Health. Secretary of Health Surveillance (2009) Department of Epidemiological Surveillance. National *Tuberculosis* Control Programme. Technical note on the changes in the treatment of *tuberculosis* in Brazil for adults and teenagers - version 2. [Cited 2014 Nov 10] Available from:
http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota_tecnica_versao_28_de_agosto_v_5.pdf
23. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Group P (2009) Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA *statement*. *Journal of clinical epidemiology.*62: 1006-1012.
24. R Core Team (2014) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available from: URL
<http://www.R-project.org/>.
25. Singapore *Tuberculosis* Service/British Medical Research Council (1991) Assessment of a daily combined preparation of isoniazid, rifampin, and pyrazinamide in a controlled trial of three 6-month regimens for smear-positive pulmonary *tuberculosis*. *Am Rev Respir Dis.*143:707-712.
26. Skrahin A, Ahmed R, K Ferrara, G Rane, L Poiret, T Isaikina, Y Skrahina, A Zumla, A Maeurer M J (2014) Autologous mesenchymal stromal cell infusion as adjunct treatment in patients with multidrug and extensively drug-resistant *tuberculosis*: an open-label phase 1 safety trial *Lancet Respir Med.*2(2):108-22
27. Su WJ, Perng RP (2002) Fixed-dose combination chemotherapy (Rifater/Rifinah) for active pulmonary *tuberculosis* in Taiwan: a two-year follow-up. *Int J Tuberc Lung Dis.*6(11):1029-32.
28. The World Health Organization (2012) The burden of disease caused by TB. The global *tuberculosis* report. WHO Press, Geneva, Switzerland.8-28.
29. The World Health Organization (2014) Treatment outcomes, The global *tuberculosis* report. WHO Press, Geneva, Switzerland.
30. The World Health Organization (2015) Global *tuberculosis* Report. WHO Press, Geneva, Switzerland.

31. Tunis SR, Stryer DB, Clancy CM (2003) Practical clinical trials: increasing the value of clinical research for decision making in clinical and health policy. *JAMA*.290:1624-1632.
32. World Health Organization (2010) Treatment of *tuberculosis*: Guidelines for national programmes, 4th ed. WHO Press, Geneva, Switzerland.
33. Wright A, Zignol M, Van Deun A, Falzon D, Gerdes SR, Feldman K, Hoffner S, Drobniewski F, Barrera L, van Soolingen D, Boulabhal F, Paramasivan CN, Kam KM, Mitarai S, Nunn P, Raviglione M (2009) Global Project on Anti-*Tuberculosis* Drug Resistance S. Epidemiology of antituberculosis drug resistance 2002-07: an updated analysis of the Global Project on Anti-*Tuberculosis* Drug Resistance Surveillance. *Lancet*.373:1861-1873.
34. Zaka-Ur-Rehman Z, Jamshaid M, Chaudhry A. (2008) Clinical evaluation and monitoring of adverse effects for fixed multidose combination against single drug therapy in pulmonary *tuberculosis* patients. *Pak J Pharm Sci.*;21:185-194.
35. Jaiswal A, Singh V, Ogden JA, Porter JD, Sharma PP, Sarin R, Arora VK, Jain RC. (2003) Adherence to *tuberculosis* treatment: lessons from the urban setting of Delhi, India. *Trop Med Int Health*.Jul;8(7):625-33.
36. Edginton, ME, Sekatane CS, Goldstein SJ (2002) Patients' beliefs: do they affect *tuberculosis* control? A study in a rural district of South Africa. *Int J Tuberc Lung Dis*. Dec;6(12):1075-82.
37. Wares DF, Singh S, Acharya AK, Dangi R (2003) Non-adherence to *tuberculosis* treatment in the eastern Tarai of Nepal. *Int J Tuberc Lung Dis* 7: 327–335.
38. Leimane, V. Riekstina, V. Holtz, T. H. Zarovska, E. Skripconoka, V. Thorpe, L. E. Laserson, K. F. Wells, C. D (2005) Clinical outcome of individualised treatment of multidrug-resistant *tuberculosis* in Latvia: a retrospective cohort study. *Lancet*.365: 318-326
39. Zumla, A. Chakaya, J. Centis, R. D'Ambrosio, L. Mwaba, P. Bates, M. Kapata, N. Nyirenda, T. Chanda, D. Mfinanga, S. Hoelscher, M. Maeurer, M. Migliori, G. B (2015) *Tuberculosis* treatment and management--an update on treatment regimens, trials, new drugs, and adjunct therapies. *Lancet Respir Med*.3: 220-234
40. Munro, S. A. ;Lewin, S. A. ;Smith, H. J. ;Engel, M. E. ;Fretheim, A. ;Volmink, J. Patient (2007) Adherence to *Tuberculosis* Treatment: A Systematic Review of Qualitative Research. *Plos Med*.4:e238

FIGURE LEGENDS

FIG1 Flow diagram

FIG2 Forest plot for rate of sputum conversion in the initial phase of treatment (≤ 2 months after start of treatment).

FIG3 Forest plot for sputum conversion in the final phase of therapy.

FIG4 Forest plot for default.

FIG5 Forest plot for number of patients with adverse effects.

FIG6 Forest plot for number of patients with gastrointestinal adverse effects.

FIGURES

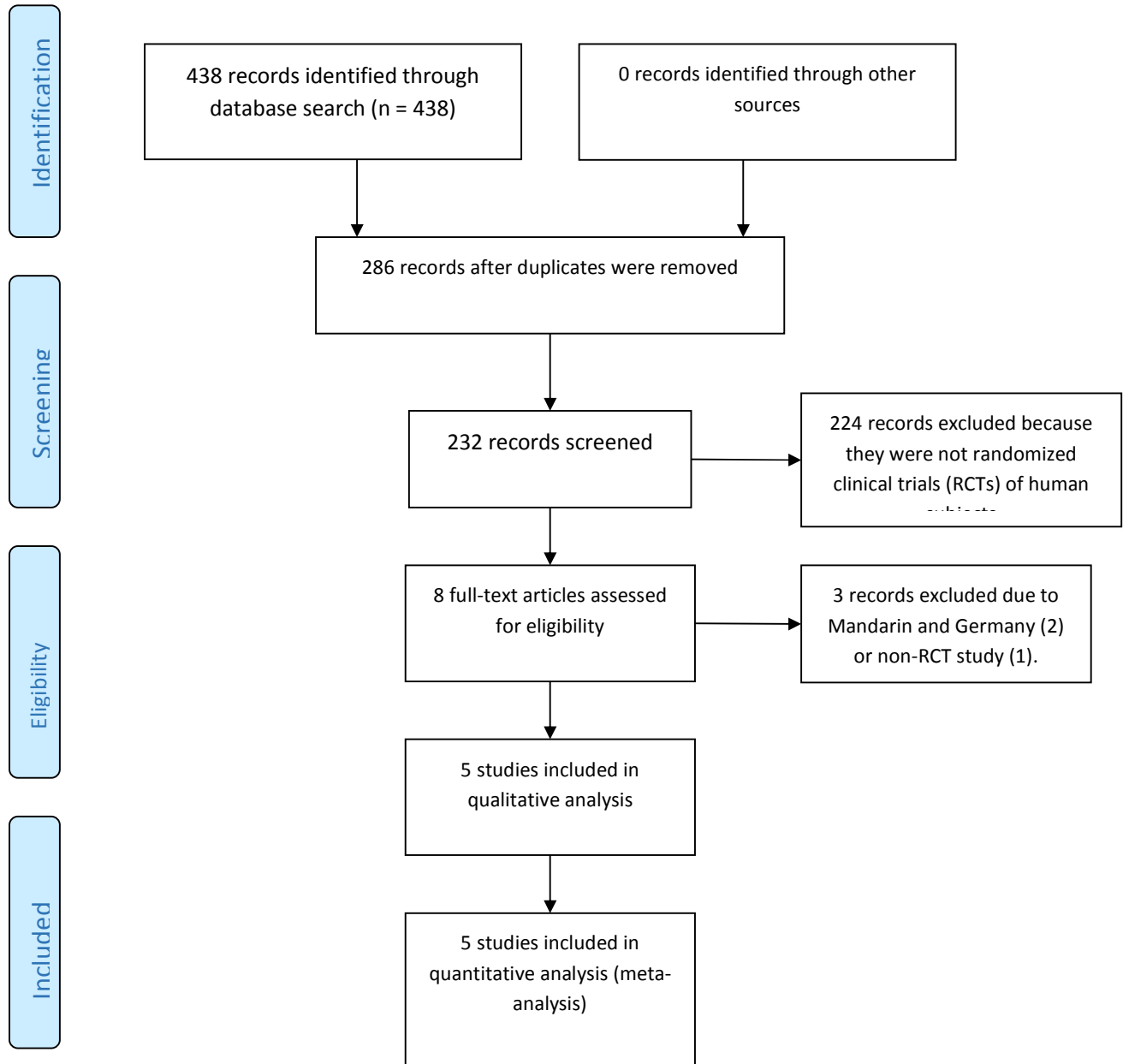


FIG 1: Flow Diagram

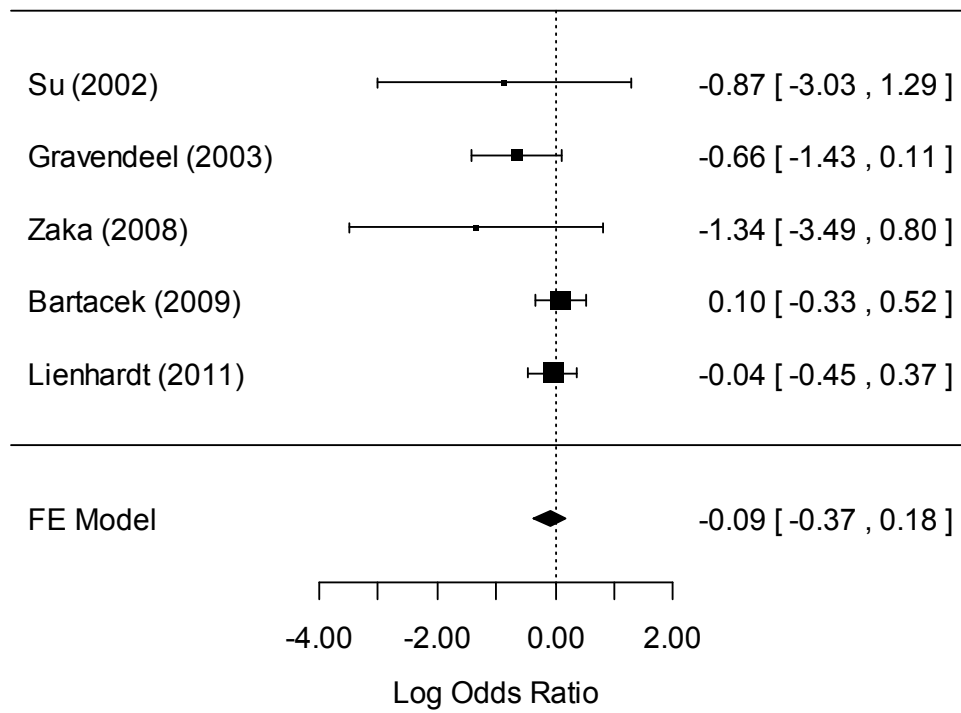


FIG 2 Forest plot for rate of sputum conversion in the initial phase of treatment (≤ 2 months after start of treatment).

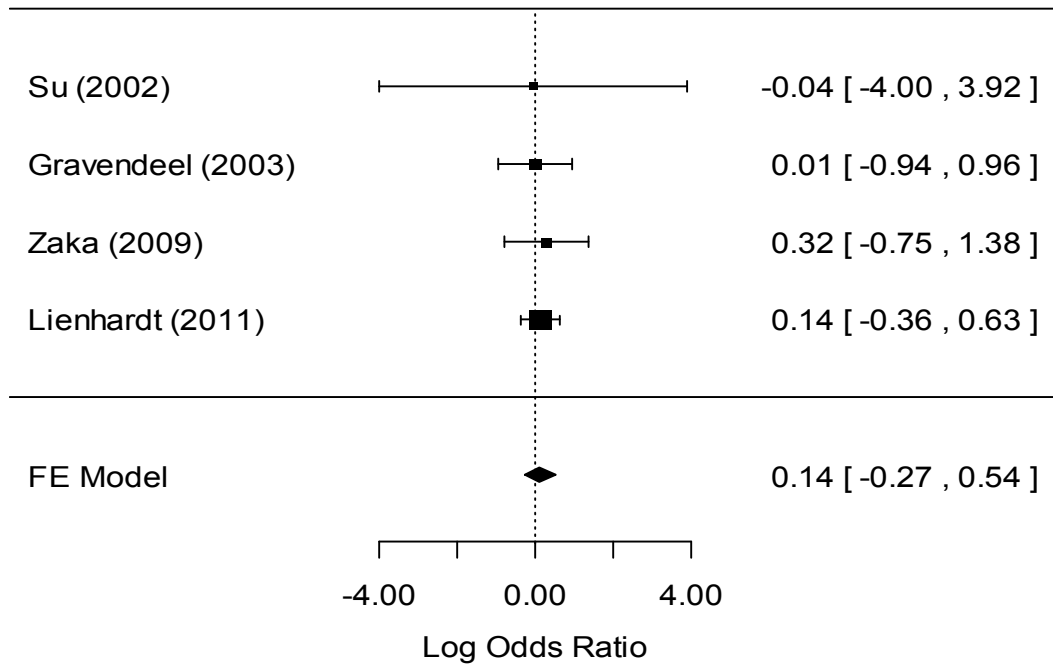


FIG 3 Forest plot for sputum conversion in the final phase of therapy.

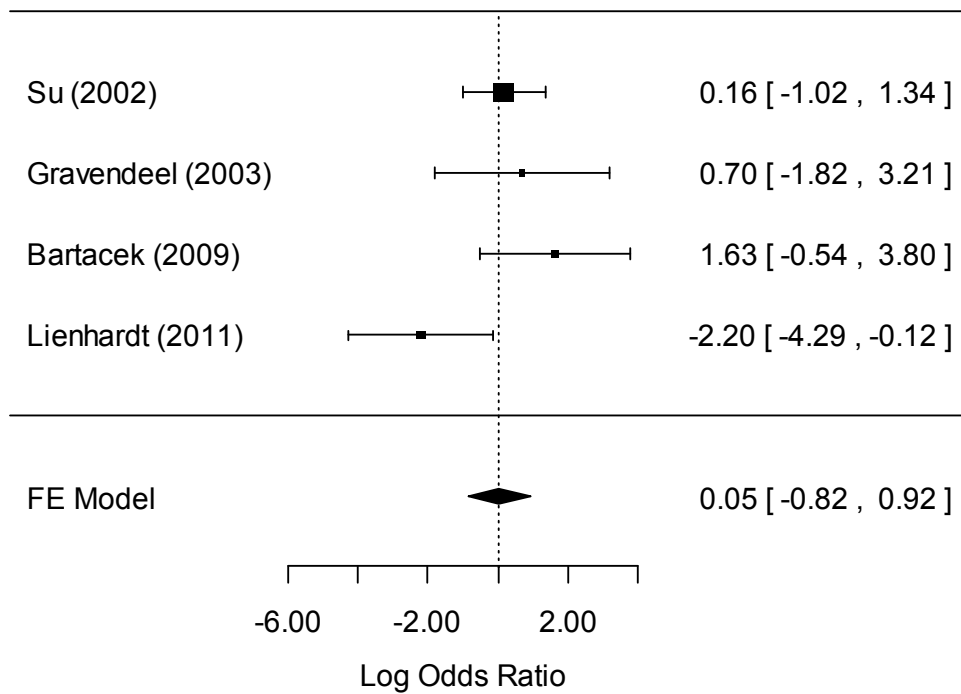


FIG 4 Forest plot for default.

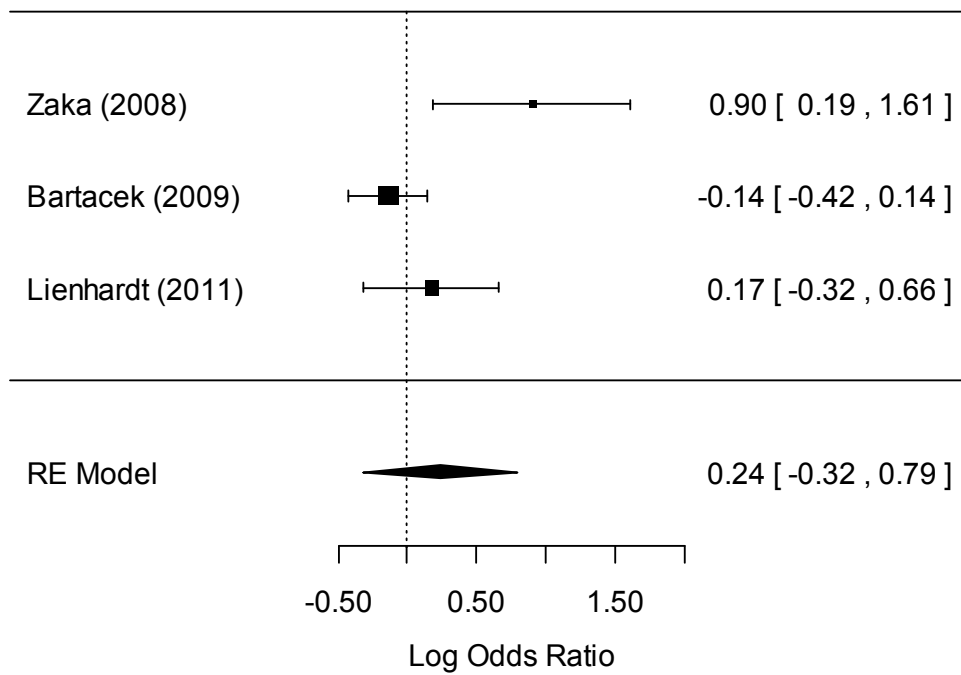


FIG 5 Forest plot for number of patients with adverse effects.

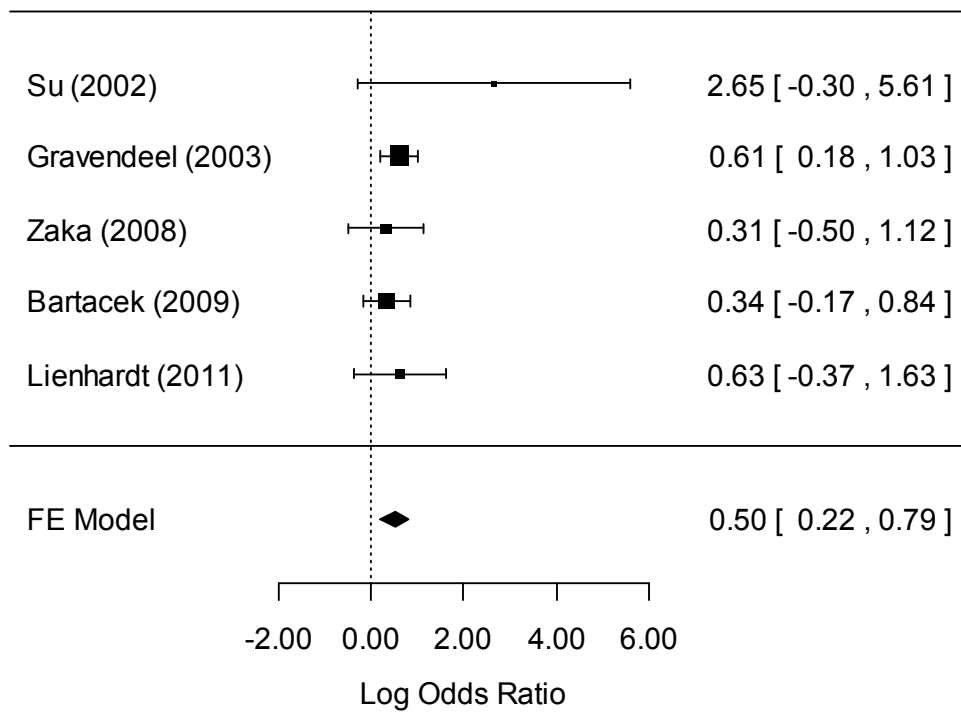


FIG 6 Forest plot for number of patients with gastrointestinal adverse effects.

TABLES

TABLE 1. Characteristics of randomized clinical trials comparing FDC with SD regimens for the treatment of TB that were included in the systematic review

Study	No. of patients	Setting	Follow-up (mo)	Eligibility criteria	Study treatments, initial phase (2 mo)	Jadad scale
Su, 2002	105	Taiwan	6	18+yr with active pulmonary TB confirmed by smear or culture and no history of previous treatment for TB	FDC = INH50mg + RIF 120 mg + PZA 250mg + EMB1200mg; SD = INH 300 mg + RIF 450 mg +PZA 150 mg + EMB 120 mg	2
Graven deel <i>et al.</i> , 2003	360	Indonesia	36	Sputum positive, weight of 33–50 kg, and provided written consent for participation	FDC = INH 75 mg + RIF 150 mg + PZA 400 mg + EMB 275 mg; SD = INH 300 mg + RIF 450 mg + PZA 500 mg + EMB 250 mg	2
Zaka <i>et al.</i> , 2008	293	Pakistan	6	15–55 yr, sputum positive, no kidney, liver or heart disease, and not pregnant	Group A (FDC) = INH 75 mg + RIF 120 mg + PZA 350 mg + EMB 250 mg; Group B (FDC) = INH 60 mg + RIF 120 mg +PZA 300 mg + EMB 225 mg; Group C (SD) = INH 100mg + RMP 450mg and 150mg + PZA 500mg	3
Bartacek <i>et al.</i> , 2009	1159	Egypt, India, Pakistan, Philippines, and Thailand	21	15+yr, ≥2 positive sputum samples or 1 positive sputum sample and a chest X-ray, and received treatment for TB for ≤1 mo	FDC = INH75mg + RIF150mg +PZA400mg + EMB275mg; SD = INH75mg + RIF 150mg + PZA400mg + EMB275mg	3
Lienhardt <i>et al.</i> , 2011	1585	Africa, Asia, and Latin America	30	New diagnosis of TB confirmed by sputum smear- positive, received treatment for TB for ≤4 wk, fixed address, agreed to receive visitors, and provided written informed consent	FDC = INH 75 mg + RIF 150mg + PZA400mg + EMB275mg; SD = INH 100 mg + RIF 150mg + PZA 400 mg + EMB 400 mg	3

Abbreviations: EMB, ethambutol; FDC, fixed-dose combination; INH, isoniazid; PZA, pirazinomide; RIF, rifampin; SD, single dose; TB, *tuberculosis*. **Doses were administered on the basis of body weight according to WHO and The European Union recommendations.

TABLE 2. Adverse events (AEs) reported in the included studies

Study	No. of patients in FDC/SD group	AEs (No. of patients) in FDC group	AEs (No. of patients) in SD group	Default	Relapse	TB drug-related death
Su, 2002	26/25	Hyperuricemia (8), skin itching (4), skin rash (2), drug fever (1), abnormal liver function (3)	Hyperuricemia (7), skin itching (7), skin rash (2), abnormal liver function (5), gastrointestinal disorders (5), blurred vision (2), sensation of numbness (1)	Not evaluated	1/57FDC	Not evaluated
Gravendeel <i>et al.</i> , 2003	198/162	Gastrointestinal disorders (81), skin reaction (83), muscle-joints (64)	Gastrointestinal disorders (89), skin reaction (67), muscle-joints (73)	1/198 FDC, 2/162 SD	Not evaluated	Not evaluated
Zaka <i>et al.</i> , 2008	194/99	Gastrointestinal disorders (28), skin reaction (8), muscle-joints (3)	Gastrointestinal disorders (23), skin reaction (3), muscle-joints (0), death (1)	53/197 FDC, 30/99 SD	0/293 FDC and SD	1 case in group C with suspected TB meningitis
Bartacek <i>et al.</i> , 2009	558/564	Skin disorders (40); asthenia, headache, fever (29); musculo-skeletal disorders (20); hepatic and biliary disorders (14); others (19)	Skin disorders (30); asthenia, headache, fever (5); musculo-skeletal disorders (22); liver and biliary disorders (21); others (8)	25/558 FDC, 15/564 SD	6/344 FDC, 3/360 SD	2/558 FDC cases of hepatitis
Lienhardt <i>et al.</i> , 2011	798/787	Rheumatological (7); dermatological (16); hepatic (5); and gastrointestinal(6) disorders; others (3)	Rheumatological (11); dermatological (15); hepatic (1); and gastrointestinal (11) disorders; others (4).	40/798 FDC, 39/787 SD	23/591 FDC, 19/579 SD	4/591 FDC, 4/579 SD

ANEXOS

ANEXO A- Aprovação do Comitê de Ética



GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE
Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER Nº 036/2012

PROTÓCOLO Nº DO PROJETO: 610/2011 – COMPARAÇÃO DO ANTIGO ESQUEMA BÁSICO DE TRATAMENTO PARA TUBERCULOSE COM O NOVO ESQUEMA PRECONIZADO PELO MINISTÉRIO DA SAÚDE COM RELAÇÃO À FALÊNCIA DO TRATAMENTO E SUA CORRELAÇÃO COM O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS PACIENTES E PERFIL MOLECULAR DAS CEPAS RESISTENTES DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS DO DF.

Instituição Pesquisada: Secretaria de Saúde do Distrito Federal/SES-DF.

Área Temática Especial: Grupo III (não pertencente à área temática especial), Ciências da Saúde.

Validade do Parecer: 13/02/2014

Tendo como base a Resolução 196/96 CNS/MS, que dispõe sobre as diretrizes e normas regulamentadoras em pesquisa envolvendo seres humanos, assim como as suas resoluções complementares, o Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal, após apreciação ética, manifesta-se pela APROVAÇÃO DO PROJETO.

Esclarecemos que o pesquisador deverá observar as responsabilidades que lhe são atribuídas na Resolução 196/96 CNS/MS, inciso IX.1 e IX.2, em relação ao desenvolvimento do projeto. Ressaltamos a necessidade de encaminhar o relatório parcial e final, além de notificações de eventos adversos quando pertinentes no prazo de 1 (um) ano a contar da presente data (item II.13 da Resolução 196/96 CNS/MS).

Brasília, 14 de fevereiro de 2012.

Atenciosamente,

Maria Rita Carvalho Garbi Novaes
Comitê de Ética em Pesquisa/FEPECS
Coordenadora

ALCEP/FEPECS

Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde - SES
Comitê de Ética em Pesquisa
Fone/Fax: 3325-4955 - e-mail: cep@saude.df.gov.br
SMAN - Q. 501 - Bloco "A" - Brasília - DF - CEP: 70.710-907
BRASÍLIA - PATRIMÔNIO CULTURAL DA HUMANIDADE

ANEXO B- Ficha de Notificação de Investigação de TB

República Federativa do Brasil Ministério da Saúde		SINAN SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO		Nº	
		FICHA DE NOTIFICAÇÃO / INVESTIGAÇÃO		TUBERCULOSE	
Dados Gerais	1 Tipo de Notificação 2- Individual		2 Data da Notificação		
	3 Município de Notificação		Código (IBGE)		
	4 Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora)		Código		
Dados do Caso	5 Agravos TUBERCULOSE		Código (CID10) A169	6 Data do Diagnóstico	
	7 Nome do Paciente		8 Data de Nascimento		
	9 (ou) Idade D - dias M - meses A - anos	10 Sexo M - Masculino F - Feminino I - Ignorado	11 Raça/Cor 1-Branca 2-Preta 3-Amarela 4-Parda 5-Indígena 9-Ignorado	12 Escolaridade (em anos de estudo concluídos) 1-Nenhuma 2-De 1 a 3 3-De 4 a 7 4-De 8 a 11 5-De 12 e mais 9-Não se aplica 9-Ignorado	
	13 Número do Cartão SUS		14 Nome da mãe		
	15 Logradouro (rua, avenida,...)		Código	16 Número	
Dados de Residência	17 Complemento (apto., casa, ...)		18 Ponto de Referência	19 UF	
	20 Município de Residência		Código (IBGE)	Distrito	
	21 Bairro		Código (IBGE)	22 CEP	
	23 (DDD) Telefone		24 Zona 1 - Urbana 2 - Rural 3 - Urbana/Rural 9 - Ignorado	25 País (se residente fora do Brasil) Código	
	Dados Complementares do Caso				
	Atribuições Epidemiológicas	26 Nº do Prontuário		27 Ocupação / Ramo de Atividade Econômica	
28 Tipo de Entrada 1 - Caso Novo 2 - Recidiva 3 - Reingresso Após Abandono 4 - Não Sabe 5 - Transferência					
Dados Clínicos	29 Raio X do Tórax 1 - Suspeito 2 - Normal 3 - Outra Patologia 4 - Não Realizado		30 Teste Tuberculínico 1 - Não Reator 2 - Reator Fraco 3 - Reator Forte 4 - Não Realizado		
	31 Forma 1 - Pulmonar 2 - Extrapulmonar 3 - Pulmonar + Extrapulmonar	32 Se Extrapulmonar 1 - Pleural 4 - Óssea 7 - Meningite 2 - Gang. Perif. 5 - Ocular 8 - Outras 3 - Geniturinária 6 - Miliar 9 - Não Se Aplica	33 Agravos Associados 1 - Aids 2 - Alcoolismo 3 - Diabetes 4 - Doença Mental 5 - Outros 9 - Ignorado		
	34 Baciloscopia de Escarro 1 - Positiva 2 - Negativa 3 - Não Realizada		35 Baciloscopia de Outro Material 1 - Positiva 2 - Negativa 3 - Não Realizada		
Dados de Laboratório	36 Cultura de Escarro 1 - Positiva 3 - Em Andamento 2 - Negativa 4 - Não Realizada		37 Cultura de Outro Material 1 - Positiva 3 - Em Andamento 2 - Negativa 4 - Não Realizada		
	38 HIV 1 - Positivo 3 - Em Andamento 2 - Negativo 4 - Não Realizado		39 Histopatologia 1 - Baar Positivo 2 - Sugestivo de TB 3 - Não Sugestivo de TB 4 - Em Andamento 5 - Não Realizado		
	40 Data de Início do Tratamento Atual		41 Drogas <input type="checkbox"/> Rifampicina <input type="checkbox"/> Isoniazida <input type="checkbox"/> Pirazinamida 1 - Sim <input type="checkbox"/> Etambutol <input type="checkbox"/> Estreptomicina <input type="checkbox"/> Etionamida 2 - Não <input type="checkbox"/> Outras _____		
Tratamento	42 Tratamento Supervisionado 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado		43 Doença Relacionada ao Trabalho 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado		
	44 Município/Unidade de Saúde		45		
Investigador	46 Nome		47 Função		
			48 Assinatura		

Tuberculose

CENEPI 03.4 27/12/01