

Tuberculose extensivamente resistente:

uma realidade presente.

Revisão da literatura a propósito de um caso clínico

Extensively drug-resistant tuberculosis:

a present reality.

Literature review based on a clinical case

/ Sandra A. Morais¹ / Virginia Moneti²

/ Joana Silva² / Karen Pereira²

/ Marta Manso³ / Teresa Vilaça Santos⁴

/ Vera Falcão² / Ana Cláudia Miranda²

/ Isabel Antunes² / Diana Machado⁵

/ Miguel Viveiros⁵ / João Rijo⁶

/ Judite Batista⁷ / Kamal Mansinho²

¹Serviço de Medicina Interna, Hospital Pedro Hispano – Unidade de Saúde Local de Matosinhos, Matosinhos, Portugal;

²Serviço de Infecção e Medicina Tropical, Hospital Egas Moniz – Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental, Lisboa, Portugal

³Serviço de Medicina Interna, Hospital Egas Moniz – Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental, Lisboa, Portugal

⁴Serviço de Medicina Interna, Hospital Torres Vedras – Centro Hospitalar do Oeste, Torres Vedras, Portugal

⁵Unidade de Microbiologia Médica, Global Health and Tropical Medicine, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal

⁶Serviço de Farmácia, Hospital Egas Moniz – Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental, Lisboa, Portugal

⁷Serviço de Patologia Clínica, Laboratórios de Microbiologia Clínica e Biologia Molecular – Hospital de Egas Moniz – Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental, Lisboa, Portugal

Patrocínios:

O presente estudo não foi patrocinado por qualquer entidade

Correspondência:

Sandra A. Morais

Rua Dr. Eduardo Torres

4464-513 Senhora da Hora

Telefone: 916309237

E-mail: sandramorais13@hotmail.com

/ Resumo

Décadas após a tuberculose ter adquirido o estatuto de doença curável, o aparecimento de estirpes de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes aos fármacos antituberculosos mais eficazes usados no tratamento de primeira linha colocou novamente esta doença como uma ameaça global à Saúde Pública.

A epidemiologia, patogénese, diagnóstico e abordagem da tuberculose resistente aos fármacos em Portugal e no Mundo são discutidas.

A presente revisão pretende, a propósito da descrição de um caso clínico, salientar a dificuldade e complexidade da abordagem clínica da tuberculose multirresistente e extensivamente resistente em Portugal, um país recentemente considerado de baixa incidência.

Palavras-chave: tuberculose, estirpes resistentes, abordagem terapêutica

/ Abstract

Decades after tuberculosis having acquired the status of curable disease, the emergence of *Mycobacterium tuberculosis* strains resistant to the most effective anti-tuberculosis drugs used in first-line treatment have placed this disease again as a global threat to public health.

The epidemiology, pathogenesis, diagnosis and approach of drug-resistant tuberculosis in Portugal and in the world are discussed.

Based on a description of a clinical case, this review highlights the difficulty and complexity of the clinical management of multi-drug resistant and extensively drug-resistant tuberculosis in Portugal, a country recently considered of low incidence.

Key-words: Gtuberculosis, resistant strains, therapeutic management

Artigo recebido em

24/08/2016

Artigo aceite para publicação em

06/02/2017

/ Introdução

Em 2013, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou que cerca de nove milhões de pessoas desenvolveram tuberculose (TB) e 1,5 milhões faleceram, das quais, 360.000 apresentavam coinfeção por vírus da imunodeficiência humana (VIH)¹.

No entanto, o diagnóstico precoce e a instituição de uma terapêutica eficaz levaram a uma diminuição de cerca de 45% na taxa de mortalidade causada pela doença entre 1990 e 2013¹.

Segundo a Direção-Geral da Saúde (DGS), em 2014, foram notificados 2.264 casos de TB em Portugal, dos quais, 2.080 corresponderam a novos casos (indivíduos sem tratamento prévio ou com tratamento inferior a um mês), representando uma taxa de incidência de 20,0/100.000 habitantes² e aproximando o nosso País do limite definido como de baixa incidência. Embora não existam distritos com elevada incidência de TB, os distritos do Porto, Lisboa, Setúbal e Algarve apresentam ainda uma incidência intermédia entre os 20 e os 50 novos casos / 100.000 habitantes².

Neste mesmo ano de 2014 foram identificados em Portugal 23 casos de TB multirresistente (TB-MR), isto é, com resistência simultânea a isoniazida e à rifampicina, correspondendo a 1% do total de casos de TB notificados. Destes, seis eram também casos de TB extensivamente resistente (TB-XR), caracterizados por resistência adicional a uma fluoroquinolona e a um injetável de 2.^a linha, representando assim 26,1% do total de casos de TB-MR e, uma das maiores percentagens a nível mundial¹⁻³.

A emergência de estirpes de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) resistente aos anti-tuberculosos é uma problemática crescente a nível global, ocorrendo em 17% dos novos casos, chegando a atingir os 35% em doentes previamente tratados³. Dados epidemiológicos documentam um aumento da TB-MR a nível mundial de cerca de 2,9% para 28,9%, entre os novos casos, e de 15,3% para 65,1%, entre os casos previamente tratados, durante o período compreendido entre 1999 e 2010^{3,4}. Mais preocupante ainda é o facto de a OMS referir que em 2015 9,7% dos casos de TB-MR seriam de TB-XR¹. A probabilidade de cura da TB-XR é menor, apresentando uma elevada mortalidade em particular em doentes com infeção concomitante por VIH⁵⁻⁷.

Neste trabalho revemos as recomendações nacionais e internacionais para a abordagem da TB resistente em países com reduzida taxa de resistências aos fármacos antituberculosos, documentando a sua aplicabilidade na prática clínica tendo por base um caso clínico exemplificativo.

/ Caso Clínico

Doente do sexo masculino com 55 anos de idade, melanodérmico, natural de Angola a residir em Lisboa, Portugal, desde 1975. Antecedentes pessoais conhecidos de alcoolismo crónico com consumos ocasionais de 300 gramas de álcool/dia, tabagismo

ativo de 40 unidades/maço/ano e história de TB pulmonar diagnosticada em 1997. À data não se conseguiu apurar qual o resultado do TSA da estirpe infetante, tendo o doente cumprido tratamento com regime que não soube especificar, durante 15 meses, com aparente resolução.

Apresentou quadro com cerca de um mês de evolução de tosse produtiva de predomínio matinal, com expectoração de cor amarelada, febre de predomínio vespertino, sudorese noturna e perda ponderal de 7%. Na admissão hospitalar apresentava-se asténico e com temperatura auricular de 37,7°C, não tendo sido identificadas outras alterações de relevo ao exame objetivo.

O estudo laboratorial documentou anemia normocítica normocrómica de 10,3 g/dL, leucocitose de 13.000 células com neutrofilia de 69% e proteína C reativa de 5,4 mg/dL.

Na telerradiografia torácica foi observado infiltrado com cavitação no lobo médio e superior do hemitórax direito.

O exame direto da expectoração (EDE) evidenciou existência de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) com um a nove por campo. A serologia para VIH, por método ELISA de 4.^a geração, não foi reativa.

Assumido o diagnóstico de TB, iniciou tratamento quádruplo com isoniazida (H), rifampicina (R), etambutol (E) e pirazinamida (Z).

Por manutenção de febre diária de predomínio vespertino e EDE com presença persistente de BAAR foi solicitada a realização do teste genotípico para pesquisa de mutações associadas à resistência aos fármacos de 1.^a linha⁸ que documentou, ao 31.^o dia de tratamento, resistência à isoniazida e à rifampicina (identificação de mutação na região promotora do gene *inhA* e no gene *rpoB*, respetivamente), apontando para o diagnóstico de TB-MR. A suspeita de TB-MR foi confirmada com a realização do TSA de 1.^a linha pelo método das proporções em sistema automatizado BACTEC MGIT 960, revelando ainda resistência adicional à estreptomomicina (S), ao etambutol e pirazinamida.

De acordo com as indicações recomendadas, para a construção de esquema terapêutico para tratamento da TB-MR⁹, o doente iniciou um fármaco injetável (estreptomomicina), uma fluoroquinolona (levofloxacina), um fármaco do grupo 4 (cicloserina) e mantiveram-se os fármacos do grupo 1 que ainda se presumiam sensíveis (etambutol e pirazinamida). Contudo, a persistência de febre sem melhoria clínica objetivável veio a presumir um padrão de resistência a todos os fármacos de 1.^a linha e ainda às fluoroquinolonas pelo que foi associado ao esquema terapêutico a amicacina (grupo 2), ácido para-aminosalicílico (PAS) e etionamida (grupo 4) e linezolid (grupo 5). A remissão da febre e melhoria clínica foi observada mas com persistência de baciloscopias positivas (10.^a semana de terapêutica). Este resultado foi explicado posteriormente pela resistência aos aminoglicosídeos de 2.^a linha e etionamida em posterior TSA de 2.^a linha. Perante o resultado do TSA, foi identificada infeção por Mtb

com padrão de resistência compatível com TB-XR (TB-MR com resistência adicional às fluoroquinolonas e aminoglicosídeos de 2ª linha). Este padrão fenotípico foi posteriormente confirmado pela pesquisa dirigida de mutações nos genes alvo para cada antibiótico, nomeadamente pela deteção das seguintes mutações: para a isoniazida e etionamida, *inhA* prom C-15T + *inhA* ORF: S94T; rifampicina, *rpoB* S531L; etambutol, *embB* M306V; estreptomicina, *rpsL* K43R; pirazinamida, *pncA* L120P; fluoroquinolonas, *gyrA* D94G e ampicina, *eis* G-10A. Face a estes resultados, ao 97º dia de tratamento associaram-se dois fármacos do grupo 5, clofazimina e bedaquilina, registando-se negatificação das baciloscopias ao 98º dia de internamento. O conhecimento do padrão de resistências ficou completo com a documentação de resistência inclusivamente à cicloserina e sensibilidade ao PAS e isoniazida em altas doses. O esquema final de tratamento consistiu em PAS, linezolida, clofazimina, bedaquilina e isoniazida em altas doses (10mg/kg/dia).

Salienta-se, no entanto, que tais fármacos não são isentos de iatrogenias significativas, destacando-se a toxicidade hematológica (linezolida) e prolongamento do QT (clofazimina e bedaquilina), bem como o risco de interações farmacológicas (clofazimina e bedaquilina) e a toxicidade cumulativa condicionada por estes fármacos¹⁰⁻¹².

A abordagem cirúrgica, neste caso em particular, não foi ponderada, dado o doente apresentar envolvimento pulmonar bilateral extenso com disseminação broncogénica, bem como, áreas de enfisema para-septal e centri-lobulares.

/ Conceitos básicos e fatores de risco para a emergência de resistência em TB

O desenvolvimento de mutações cromossómicas nos genes que codificam os alvos dos antibióticos é um dos principais mecanismos de resistência do Mtb aos fármacos antituberculosos^{13,14}. A resistência farmacológica surge frequentemente associada a uma abordagem incorreta do tratamento da doença, levando à seleção sucessiva de populações de bacilos com crescente acumulação de resistências¹³⁻¹⁶. Sabe-se que em indivíduos em tratamento com regime clássico (HREZ) o primeiro fármaco a que Mtb adquire resistência é predominantemente à isoniazida (taxa de mutação de 2.56×10^{-8} vs 2.95×10^{-8} para a estreptomicina ou 2.25×10^{-10} para a rifampicina)^{14,15}. A resistência a dois ou mais fármacos surge através da acumulação de mutações sequenciais em diferentes genes alvo da atividade dos fármacos antituberculosos^{14,15}. Para além disso, quanto maior a população de bacilos maior será a probabilidade de surgir uma mutação que confira resistência farmacológica. Assim, doentes com cavitações (10^7 - 10^9 bacilos por cavidade) apresentam maior probabilidade de desenvolver mutações comparativamente a doentes com lesões caseosas (10^2 - 10^4), ou ainda, doentes com baciloscopias positivas comparativamente a doentes com TB pulmonar com baciloscopias negativas^{13,16}.

O uso de esquemas terapêuticos inapropriados, doses inferiores às recomendadas resultando muitas vezes em monoterapias, uso de fármacos de fraca qualidade ou a baixa adesão ao tratamento, são fatores de risco frequentemente identificados como potenciadores de desenvolvimento/seleção de estirpes multirresistentes em doentes com TB^{13,15}.

/ Meios de diagnóstico recomendados para identificação de estirpes resistentes

O exame microscópico direto é um exame de baixo custo que permite determinar a presença de BAAR nas amostras examinadas, sendo o exame mais utilizado para o diagnóstico de TB¹⁷⁻¹⁹. No entanto, este teste não permite a distinção entre diferentes espécies de micobactérias, entre bacilos viáveis ou não viáveis, ou mesmo a diferenciação entre bacilos sensíveis ou resistentes aos fármacos.

O diagnóstico laboratorial definitivo de TB é obtido através do isolamento e identificação por cultura de Mtb e subsequente realização do TSA (teste fenotípico) usando o método das proporções em meio líquido (Bactec MGIT 960) ou sólido (meio de Löwenstein-Jensen ou Middlebrook 7H10)¹⁷⁻²³. Em Portugal, a DGS recomenda que sejam solicitados e efetuados TSA de 1ª linha em todos os casos com isolamento do complexo Mtb, classificados como novos ou como retratamentos (recidivas, insucessos terapêuticos, interrupção do tratamento e crónicos)²³. Contudo, o TSA convencional demora pelo que durante este período o doente poderá ser tratado inapropriadamente. O diagnóstico rápido e precoce de TB e a pesquisa de mutações associadas à resistência aos fármacos traz benefícios óbvios, não só para o doente, com consequente melhor prognóstico, aumento da sobrevida e prevenção de aquisição de novas resistências, como também em termos de Saúde Pública, com a redução da disseminação de estirpes resistentes^{20,24,25}.

Várias mutações específicas, que condicionam resistência farmacológica, foram identificadas até ao momento, sendo as mais frequentes e com maior correlação clínica alvo de testes de diagnóstico molecular^{13,15,26} (quadro I).

Vários testes moleculares têm sido desenvolvidos com o propósito de diminuir o tempo de diagnóstico. Estes baseiam-se em reações de amplificação de ácidos nucleicos e posterior hibridação com sondas de ácido desoxirribonucleico (ADN) específicas para o gene selvagem (estirpe sensível) ou para o gene mutado (estirpe resistente)^{8,24,27}.

Os métodos de diagnóstico molecular que se baseiam na tecnologia de sondas de ADN em membrana e no princípio da hibridação reversa ou "*Lineprobe assays*" permitem documentar de forma rápida (entre um e dois dias) a presença de mutações que conferem resistência à rifampicina e isoniazida. Estes podem ser usados em amostras de expectoração positivas para BAAR ou isolados de culturas. O seu uso é recomendado desde 2008 pela OMS, bem

QUADRO I - MARCADORES GENÉTICOS DE RESISTÊNCIA AOS ANTITUBERCULOSOS DE 1.ª E 2.ª LINHA^{26,49,50}

ANTITUBERCULOSO	GENE ALVO	FREQUÊNCIA DA MUTAÇÃO	OBSERVAÇÕES
Isoniazida	<i>katG</i>	5-98%	Resistência cruzada com a etionamida
	<i>inhA</i>	12-42%	
Rifampicina	<i>rpoB</i>	95%	Resistência cruzada com todas as rifamicinas
Pirazinamida	<i>pncA</i>	70-97%	
Etambutol	<i>embB</i>	20-88%	
Estreptomicina	<i>rpsL</i>	75-90%	
	<i>rrs</i> região 500		
Fluoroquinolonas	<i>gyrA</i>	20-58%	
	<i>gyrB</i>	< 1%	
Aminoglicosídeos de 2ª linha**	<i>rrs</i> região 1400	78%	Resistência cruzada à Am, Cm e Km
	<i>tlyA</i>		Resistência à Cm
	<i>eis</i>	11-22%	Resistência cruzada à Am e Km

**Estirpes resistentes à estreptomicina poderão ser habitualmente sensíveis à Am-amicacina, Cm-Capreomicina, Km – Canamicina e Cm-Capreomicina, uma vez que não tem como alvo a mesma região do gene *rrs*⁴².

como pela DGS^{8,24}, no entanto, são mais dispendiosos e pouco acessíveis, estando disponíveis mais frequentemente em laboratórios centrais ou de referência nacional⁸.

Para colmatar essa limitação, aspeto com maior relevância em países em desenvolvimento sem laboratórios centrais ou de referência nacional facilmente acessíveis, a OMS recomenda, desde 2010, a realização do teste molecular "point-of-care" GeneXpert MTB/RIF[®], como teste de diagnóstico inicial em indivíduos com risco de infeção por TB-MR ou com infeção por VIH^{28,29}. O Xpert MTB/RIF é um teste molecular que usa "real-time polymerase chain reaction" (real-time PCR) para detectar no ADN do complexo Mtbe as mutações mais comuns associadas com a resistência à rifampicina, diretamente de amostras de expectoração positivas ou negativas para BAAR, sendo o resultado obtido em menos de duas horas. Apresenta uma sensibilidade e especificidade semelhante às culturas em meio sólido^{28,30}.

Importa salientar que o uso de testes genotípicos para o diagnóstico rápido de TB-MR não elimina a necessidade de realização de testes fenotípicos convencionais (cultura e TSA)^{26,31}. O isolamento em cultura é necessário principalmente para monitorização de resposta ao tratamento em doentes com TB-MR e ainda para a realização do TSA de 2ª linha^{9,20,22,31}. Em Portugal, a DGS recomenda que o espectro mínimo de fármacos antituberculosos a incluir mandatoriamente no TSA de 2ª linha seja constituído por seis fármacos agrupados da seguinte forma: antituberculosos injetáveis (amicacina e capreomicina), fluoroquinolonas (ofloxacina) e outros fármacos bacteriostáticos (etionamida, PAS e cicloserina)³². Sem prejuízo

do disposto poderão ser testados outros antibióticos por indicação expressa do médico e em consonância com o responsável do laboratório³².

Atualmente existe apenas um teste molecular comercialmente disponível para a deteção de TB-XR, o Genotype MTBDRsl, recentemente recomendado pela OMS para pesquisa de mutações associadas a fluoroquinolonas e aminoglicosídeos de 2ª linha³³.

No entanto, os testes fenotípicos para determinação de susceptibilidade aos antibióticos são considerados o método de referência para detetar a TB-MR e TB-XR, sendo o meio de cultura líquido o método mais rápido e preciso para determinação de TSA de 1ª e 2ª linha^{9,22,31}.

A OMS dá particular ênfase à importância das reações cruzadas entre fármacos antituberculosos (quadro II) que, aliado ao fato de não ser ainda possível a completa compreensão dos seus mecanismos moleculares da resistência, podem ser um fator confundidor na interpretação dos resultados dos TSA e da sua consequente valorização clínica. Embora exista evidência crescente da associação entre resistência farmacológica fenotípica e mutações genéticas específicas²⁶, nem todas as mutações que conferem resistência a antituberculosos de 1ª e 2ª linha foram descritas, nem os mecanismos moleculares dessas mutações que explicam a aquisição de resistência foram elucidados^{26,34,35}. De igual modo, é importante referir que as várias mutações atualmente conhecidas não apresentam igual nível de importância, relativamente ao grau de resistência conferido aos antituberculosos^{20-22,26,31}.

QUADRO II – DESCRIÇÃO DAS REAÇÕES CRUZADAS CONHECIDAS ENTRE DETERMINADOS ANTITUBERCULOSOS^{9,34,35,40}.

ANTIBIÓTICOS	REAÇÕES CRUZADAS
Rifamicinas	Rifampicina, rifabutina e rifapentina apresentam elevado grau de RC.
Isoniazida	Elevado grau de RC entre H e etionamida se presente mutação no gene <i>inhA</i> .
Aminoglicosídeos e péptidos cíclicos	Am e Km – elevado grau de RC. Am, Km e Cm – RC se mutação <i>rrs</i> (implicações clínicas não esclarecidas).
Fluoroquinolonas	RC variável, análise <i>in vitro</i> sugere que FQ de ultima geração (Lfx, Mfx) mantêm efetividade mesmo quando 1.ª geração (Ofx) resistente (implicações clínicas não esclarecidas). Aconselha-se teste da FQ usada no esquema terapêutico implementado (p.ex. Lfx por oposição à Ofx como é prática frequente).
Tiamidas	RC de 100% entre protionamida e etionamida.

Legenda: Am – Amicacina; Cm – Capreomicina; FQ – Fluoroquinolonas; H – Isoniazida; Km – Canamicina; Lfx – Levofloxacina; Mfx – Moxifloxacina; Ofx – Oxifloxacina; RC – Resistência cruzada.

Proposto pela OMS em 1994, o conhecimento das resistências aos antituberculosos teve grande impulso com o desenvolvimento do Programa Global da Vigilância da Resistência aos Antituberculosos³⁶. Em Portugal, este Programa foi aplicado sob a responsabilidade conjunta do Núcleo de Tuberculose e Doenças Respiratórias da DGS e do Laboratório de Tuberculose e Micobactérias do Porto, localizado no Centro de Bacteriologia do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA), com o apoio dos resultados, das metodologias e das abordagens clínico-laboratoriais implementadas pelo Grupo de Trabalho para a Tuberculose na Grande Lisboa, coordenado pelo Instituto de Higiene e Medicina Tropical da Universidade Nova de Lisboa (1999-2012)^{25,27,37}.

Com base no exposto, atualmente, em Portugal, a responsabilidade dos TSA de 2ª linha é do Laboratório de Referência do INSA no Porto ou dos laboratórios por este indicados³².

/ Grupos de risco para o desenvolvimento de TB resistente aos fármacos

Portugal é hoje considerado um país com baixa prevalência de infeção por TB-MR, apresentando uma percentagem estimada de TB-MR de 0,98% nos novos casos diagnosticados em 2015 e de 6,9% nos casos previamente tratados^{38,39}.

OTSA deve ser realizado em todos os casos de TB diagnosticados antes de iniciarem tratamento, com o objetivo de administrar o esquema terapêutico mais apropriado a cada indivíduo. No entanto, nem sempre o resultado deste teste está disponível em tempo útil, sendo que a cuidada avaliação prévia do risco é necessária na seleção dos doentes. O risco de infeção por TB resistente aos fármacos é determinado tendo por base a história clínica do doente e os dados epidemiológicos do país de origem permitindo assim identificar grupos de alto risco⁹(quadro III).

A OMS e a DGS recomendam a realização de testes moleculares de diagnóstico rápido nos seguintes grupos de doentes^{9,24,40}:

- Doentes que vão iniciar um regime de retratamento (ex. doentes com falência terapêutica prévia, recidiva ou que regressaram para retomar tratamento após perda de seguimento);
- Contactos de doentes com TB resistente aos fármacos conhecida, que apresentem diagnóstico de TB;
- Doentes que não respondem à terapêutica antituberculosa de 1.ª linha (baciloscopia positiva ao 2.º ou 3.º mês de tratamento);
- Doentes com infeção por VIH e com diagnóstico de TB;
- Qualquer doente com TB que provenha de algum grupo ou país considerado de elevado risco para TB resistente aos fármacos.

Todos os doentes com diagnóstico de TB-MR devem ser testados para TB-XR, sendo que, como previamente descrito, o diagnóstico deverá ser realizado por métodos fenotípicos convencionais para determinação de TSA^{9,32}. De referir que estão em risco para TB-XR, os doentes em tratamento para TB-MR (ou contato com doentes em tratamento) em que se documentou falência de esquema que continha fármacos antituberculosos de 2.ª linha que incluíam um fármaco injetável e uma fluoroquinolona ou ainda os contatos próximos de doente com infeção conhecida por TB-XR⁹.

É importante ressaltar que em indivíduos com infeção por VIH, que apresentam um risco elevado de infeção por TB-XR, a abordagem terapêutica deverá ser urgente dado o maior risco de rápida progressão para morte. Nestes casos é preconizado o início empírico de esquema terapêutico para TB-XR enquanto se aguarda o resultado do TSA⁹.

/ Abordagem terapêutica da TB mediante o padrão de resistência

O tratamento da TB deve basear-se em dois princípios importantes: a associação de antituberculosos administrados

QUADRO III - FATORES DE RISCO PARA O DESENVOLVIMENTO DE TB RESISTENTE AOS FÁRMACOS^{9,24}
Falência de retratamento com antituberculosos de 1ª linha (SHREZ)^{19,26}

- Baciloscopias persistentemente positivas após regime de retratamento

Contato com doente com infeção conhecida por TB resistente aos fármacos^{19,26}
Falência de terapêutica clássica (HREZ) em novo caso^{19,26}

- Baciloscopias positivas ao 5.º mês (ou mais) de terapêutica

Falência de terapêutica em doentes tratados no setor privado²⁶

- Esquemas terapêuticos podem variar grandemente (mais comum em países em desenvolvimento)

Baciloscopias positivas ao 2.º ou 3.º mês de terapêutica antituberculosa de 1ª linha²⁶
Recidiva ou regresso após perda de seguimento, sem falência terapêutica recente²⁶

- Maioria das recidiva ou dos casos que regressam após perda de seguimento (sem falência terapêutica recente) não apresentam TB resistente aos fármacos. No entanto, a história clínica poderá sugerir um risco acrescido, como seja, a toma errática dos antituberculosos ou as recidivas precoces.

Exposição em instituições com documentação de TB resistente aos fármacos ou com elevada prevalência desta^{19,26}

Em alguns países, indivíduos que frequentam instituições para sem-abrigo, presidiários e profissionais de saúde podem apresentar elevadas taxas de infeção por TB resistente aos fármacos.

Residir em áreas com elevada prevalência de TB resistente aos fármacos^{19,26}
História de toma de antituberculosos de baixa qualidade ou qualidade desconhecida²⁶
Tratamento em programas com má implementação/atuação (especialmente com recente e/ou frequente rutura de stock de fármacos)²⁶
Comorbilidades associadas com malabsorção ou episódios intermitentes de diarreia²⁶

- A malabsorção pode resultar em níveis séricos baixos de antituberculosos

Infeção por VIH em alguns cenários^{19,26}

- Dados do "Global project on anti-TB drug resistance surveillance"⁴⁴⁻⁴⁶ sugerem associação entre infeção por VIH e TB-MR em alguns locais do mundo. OMS e DGS recomendam a realização de TSA nestes indivíduos

concomitantemente para evitar o desenvolvimento de resistências e a necessidade de um regime terapêutico prolongado para prevenir a recidiva da doença¹³.

Segundo a OMS, o esquema terapêutico clássico para tratamento da TB sensível consiste em dois meses de terapêutica antituberculosa quadrupla com HREZ, seguida de quatro meses de terapêutica de manutenção com HR¹⁰.

A história de tratamento antituberculoso prévio é um importante fator de risco para o desenvolvimento de resistência aos antituberculosos. Estes indivíduos apresentam uma probabilidade de desenvolvimento de resistência farmacológica cerca de quatro vezes mais elevada e, particularmente para TB-MR, cerca de 10 vezes mais elevada, do que para os indivíduos sem tratamento antituberculoso prévio¹⁵.

Com base no TSA de Mtb isolado de indivíduos com diagnóstico de TB, e para fins de monitorização, os casos de fármaco-resistência podem ser classificados nas seguintes categorias^{9,10,12,15,40}:

- Monorresistência: resistência apenas a um antituberculoso de 1.ª linha;
- Polirresistência: resistência a mais do que um antituberculoso de 1.ª linha, que não a associação de isoniazida e rifampicina;
- Multirresistência (MR): resistência à isoniazida e rifampicina, aos quais pode estar associada, ou não, resistência a outros antituberculosos de 1.ª linha;
- Extensivamente resistente (XR): TB-MR ao qual se associa resistência a qualquer fluoroquinolona e a pelo menos um dos três injetáveis de 2.ª linha (canamicina, amicacina ou capreomicina);
- Resistência à rifampicina (RR): resistência à rifampicina detetada usando métodos fenotípicos ou genotípicos, com ou sem resistência a outros antituberculosos. Inclui qualquer resistência documentada à rifampicina, na forma de mono ou polirresistência, MR ou XR.

As seguintes categorizações são necessárias uma vez que ditam a escolha terapêutica em particular de antituberculosos de 2ª linha.

/ Abordagem terapêutica da TB mono ou polirresistente^{9,40}:

Vários estudos epidemiológicos demonstraram uma maior prevalência de infeção por estirpes com mono ou polirresistência comparativamente aos restantes padrões de resistência (TB-MR ou TB-XR)^{3,4}. No entanto, a OMS não conseguiu ainda a criação de uma abordagem terapêutica com evidência científica comprovada para estes casos, sendo que o tratamento da TB mono ou polirresistente baseia-se atualmente na opinião de peritos e de pequenos estudos observacionais⁹ (quadro IV).

Como é possível constatar, com exceção da TB-MR, TB-RR e da TB com resistência combinada a isoniazida, etambutol e estreptomicina, a maioria dos doentes com TB que apresentem estirpes com os restantes padrões de resistência aos antituberculosos de 1.ª linha poderá alcançar cura da doença usando a terapêutica com regime clássico (HREZ)^{9,11}.

/ Abordagem terapêutica da TB-MR^{9,12,24,41}

Geralmente, os esquemas terapêuticos da TB resistente aos fármacos são compostos por duas fases: a fase de indução ou fase intensiva que corresponde ao período no qual se usa um fármaco injetável de 2.ª linha e a fase de manutenção, quando esse fármaco é suspenso.

Segundo as recomendações da OMS e da DGS a fase intensiva deverá ter a duração de pelo menos oito meses, no entanto, a sua duração poderá ser alterada mediante a resposta clínica ou microbiológica^{9,12,40,41}. Alguns peritos defendem que a fase intensiva deverá ser continuada por, pelo menos, quatro meses após comprovação laboratorial da negatividade cultural. O período total de terapêutica em doentes que não receberam tratamento prévio para TB-MR deverá ser de pelo menos 20 meses^{9,12,40,41}.

Vários princípios gerais deverão ser tidos em conta na elaboração de esquemas terapêuticos para tratamento da TB-MR^{9,12}. Em 2016 a OMS reformulou a priorização dos antituberculosos a selecionar para o tratamento da TB-MR/TB-RR, tendo reagrupado os antituberculosos como se segue⁴¹:

- Grupo A –Fluoroquinolonas: levofloxacina, moxifloxacina e gatifloxacina;
- Grupo B – Injetáveis de 2ª linha: amicacina, capreomicina e canamicina;
- Grupo C – Outros antituberculosos de 2ª linha: etionamida/ protionamida, cicloserina / terizidona, linezolida e clofazimina;
- Grupo D – Antituberculosos adicionais (não fazem parte do núcleo de fármacos a escolher para o tratamento da TB-MR):
 - Grupo D1: pirazinamida, etambutol e isoniazida em altas doses;
 - Grupo D2: bedaquilina e delamanide;
 - Grupo D3: PAS, imipenem ou meropenem com clavulanato, amoxicilina com clavulanato e tioacetazona.

A deteção precoce e início imediato de uma terapêutica eficaz são fatores de prognóstico importantes. A fase de tratamento intensivo (1ª fase) da TB-MR deverá incluir pelo menos quatro antituberculosos de 2ª linha que se considerem potencialmente efetivos (incluído um fármaco injetável), e ainda a pirazinamida. Hipoteticamente, um esquema habitual deverá incluir pelo

QUADRO IV - ABORDAGEM TERAPÊUTICA RECOMENDADA PELA OMS PARA OS DOENTES COM TB MONO OU POLIRRESISTENTE

PADRÃO DE FÁRMACO-RESISTÊNCIA	ESQUEMA SUGERIDO	DURAÇÃO MÍNIMA DE TRATAMENTO (MESES)	COMENTÁRIOS
H (± S)	R,Z e E (± FQ)	6-9	Xpert MTB/RIF ao mês 0, 2 e 3; se resistência à R abordar como TB-MR. Alguns peritos associam FQ.
H e E (± S)	R, Z e FQ	9-12	Xpert MTB/RIF ao mês 0, 2 e 3; se resistência à R abordar como TB-MR e avaliar TSA para antituberculosos de 1.º e 2.ª linha. Alguns peritos recomendam a associação de injetáveis de 2.ª linha nos primeiros 3 meses ⁵¹ .
H,E,Z (± S)	R, FQ + etionamida + injetável de 2.ª linha durante primeiros 2-3 meses.	18	Prolongar injetável de 2.ª linha (6 meses) poderá fortalecer esquema na doença extensa. Ponderar adição de Z se documentação de resistência incerta. Xpert MTB/RIF ao mês 0, 2 e 3; se resistência à R abordar como TB-MR e avaliar TSA para antituberculosos de 1.ª e 2.ª linha. Se cultura positiva após 2.º mês, repetir TSA para antituberculosos de 1.ª e 2.ª linha.
R mono- ou poli-	Abordar como TB-MR	20	Ver abordagem terapêutica da TB-MR.

O uso do Xpert MTB/RIF ao mês 0, 2 e 3 não tem como objetivo monitorizar a resposta à terapêutica (o teste pode ser positivo mesmo em doentes com resposta positiva à terapêutica e mesmo após atingir cura). Será apenas para documentar desenvolvimento de resistência à R durante o tratamento.

E - Etambutol; FQ - Fluoroquinolona; H - Isoniazida; R - Rifampicina; S - Streptomina; Z - Pirazinamida.

menos a pirazinamida, uma fluoroquinolona (grupo A), um injetável de 2ª linha (grupo B) e 2 ou mais fármacos do grupo C^{9,12,40,41}. Na impossibilidade de se obter um total de cinco antituberculosos eficazes, usando os fármacos dos grupos A a D1, deverá ser considerada a adição dos fármacos dos grupos D2 e D3.⁴¹

No caso da etionamida, e caso não exista TSA de 2ª linha disponível em tempo útil, é importante perceber qual a mutação que confere resistência à isoniazida, uma vez que em Portugal é frequente a existência de duplas mutações no promotor e no gene estrutural do alvo dos dois fármacos, a enzima *InhA*^{42,43}, dado que, estas duplas mutações conferem resistência cruzada à isoniazida e etionamida^{26,43}.

/ Como construir um esquema terapêutico para tratamento da TB-MR^{9,40,41,44}

1. Escolher uma fluoroquinolona de última geração (grupo A);
2. Escolher um fármaco injetável de 2ª linha (grupo B);
3. Adicionar dois ou mais fármacos do grupo C até ser possível construir um esquema terapêutico com pelo menos quatro antituberculosos de 2ª linha com potencial efetividade de tratamento;

4. Adicionar pirazinamida e/ou etambutol (grupo D1) se sensibilidade demonstrada no TSA;
5. Adicionar fármacos do restante grupo D se não foi possível construir um esquema de quatro antituberculosos de 2ª linha com potencial efetividade terapêutica dos grupos A a D1.

É importante referir que embora determinados fármacos sejam recomendados para a criação de um esquema terapêutico, estes não deverão ser usados se o doente apresentar uma contraindicação absoluta para o seu uso, como seja, comorbilidades, história de alergia grave ou outra reação adversa e/ou gravidez, ou ainda, desenvolvam interações farmacológicas ou toxicidade importante aos respetivos fármacos.

Em doentes com infeção por VIH, independentemente do número de células TCD4+, a terapêutica antirretroviral deverá ser iniciada o mais precocemente possível (nas primeiras oito semanas de tratamento) após o início da terapêutica antituberculosa^{9,12,41}.

/ Abordagem terapêutica da TB-XR^{9,40,44}

As evidências relativamente à melhor abordagem clínica da TB-XR são limitadas, sendo que uma revisão recente do prognóstico terapêutico de doentes com TB-XR não identificou nenhuma

associação entre um fármaco ou esquema terapêutico específico e um prognóstico favorável, tendo contudo identificado que o melhor resultado seria obtido se fossem usados pelo menos seis fármacos antituberculosos na fase intensiva e quatro antituberculosos na fase de manutenção⁴⁵.

Segundo a OMS e a DGS as seguintes recomendações deverão ser tidas em conta na abordagem terapêutica de doentes com infeção por TB-XR documentada, ou com elevado risco de suspeição da mesma^{9,40,41,44}:

- Usar pirazinamida e qualquer outro antituberculoso do grupo D1 que ainda possa ser eficaz;
- Usar um fármaco injetável (grupo B) para o qual a estirpe é suscetível e considerar o seu uso durante um período prolongado (12 meses ou se possível durante todo o tratamento);
- Usar uma fluoroquinolona (grupo A) de última geração como a moxifloxacina ou a gatifloxacina;
- Usar todos os fármacos do grupo C que ainda não tenham sido usados extensivamente em esquemas prévios ou qualquer um que seja potencialmente efetivo;
- Adicionar 2 ou mais fármacos do grupo D2 e D3 (considerar em particular o uso de bedaquilina ou delamanide);
- Considerar tratamento com isoniazida em altas doses se documentada resistência de baixo nível ou mesmo ausência de mutação no gene *katG*;
- Considerar terapêutica cirúrgica adjuvante se a doença for localizada;
- Assegurar medidas de controlo de infeção rigorosas;
- Considerar a possibilidade de tratamento hospitalar se a condição clínica do doente é precária ou coexistem comorbilidades major;
- Tratar adequadamente a coinfeção por VIH.

/ Cirurgia no tratamento da TB resistente aos fármacos

A intervenção cirúrgica mais frequente em doentes com TB pulmonar resistente aos fármacos consiste na remoção parcial (lobectomia) ou total de um pulmão, procedimento este que provou ser efetivo e seguro em determinadas condições⁴⁶. Esta abordagem é considerada uma terapêutica adjuvante à terapêutica farmacológica, não estando indicada em doentes com doença pulmonar extensa bilateral⁵.

A abordagem cirúrgica, quando indicada, deverá ser considerada numa fase precoce da doença quando o risco de morbi-mortalidade do doente é baixo, *i.e.*, quando a doença ainda se encontra localizada apenas a um lobo ou a um pulmão. Idealmente, deverá ser iniciada terapêutica antituberculosa pelo menos dois meses antes da intervenção cirúrgica com o intuito de diminuir a infeção bacteriana no tecido pulmonar circundante⁹.

/ Terapêutica adjuvante no tratamento da TB resistente aos fármacos

Corticosteróides; a terapêutica adjuvante com corticoides mostrou ser benéfica em determinadas condições como na infeção severa do sistema nervoso central ou pericárdica. Alguns peritos referem ainda que poderão ser benéficos nos casos de insuficiência respiratória ou na TB miliar⁴⁷.

Piridoxina (vitamina B6): deverá ser administrada a todos os doentes em tratamento com cicloserina, terizidona, isoniazida em altas doses ou linezolidina para prevenir efeitos secundários neurológicos⁴⁸.

/ Conclusão

A abordagem seguida no tratamento deste doente, revelou-se um desafio, não só pela dificuldade na abordagem clínica, com avanços e retrocessos na escolha terapêutica e gestão dos efeitos laterais e/ou toxicidade dos fármacos administrados, bem como pela necessária articulação com as várias entidades envolvidas na abordagem deste grupo de doentes. A saber, o laboratório de microbiologia e biologia molecular, a farmácia hospitalar, o laboratório de Referência do INSA Porto e o Centro de Diagnóstico Pneumológico.

Com base no caso clínico apresentado salientamos: (I) a importância da integração de novos antituberculosos nos esquemas terapêuticos, em particular de doentes infetados com estirpes com padrão de resistência alargado, bem como (II) a importância da incorporação na decisão clínica da informação laboratorial de base fenotípica e molecular sobre o perfil de resistência associado à estirpe infetante, que permite hoje inferir resultados terapêuticos com grande correlação e segurança^{26,31}.

Ficou demonstrado que a gestão de doentes com TB resistente aos fármacos requer uma equipa multidisciplinar, articulada com as estruturas da comunidade e os serviços de saúde, com o objetivo de devolver o doente à sociedade. Para além disso, a emergência de TB-XR evidencia a clara necessidade de rever e reforçar as políticas de controlo e prevenção da TB^{4,11,12}.

/ Bibliografia

- 1 World Health Organization (2014). Global tuberculosis report 2014. WHO/HTM/TB/2014.08. Geneva, Suíça.
- 2 Diniz A, Duarte R, Caldeira C, Bettencourt J, Gomes M, Oliveira O, et al. Portugal – Infecção VIH, SIDA e Tuberculose em números – 2014. Direção-Geral da Saúde; 2014.
- 3 Aziz MA, Wright A, Laszlo A, De Muynck A, Portals F, Van Deun A, et al. Epidemiology of antituberculosis drug resistance (the Global Project on Anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance): an updated analysis. *Lancet* 2006;368:2142–54.
- 4 Zignol M, van Gemert W, Falzon D, Sismanidis C, Glaziou P, Floyd K, et al. Surveillance of anti-tuberculosis drug resistance in the world: an updated analysis, 2007–2010. *Bulletin of the World Health Organization* 2012;90:111–9d.
- 5 Center for Disease Control and Prevention. Emergence of *Mycobacterium tuberculosis* with extensive resistance to second-line drugs–worldwide, 2000–2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2006;55:301–5.
- 6 Kvasnovsky CL, Cegielski JP, Erasmus R, Siwisa NO, Thomas K, der Walt ML. Extensively drug-resistant TB in Eastern Cape, South Africa: high mortality in HIV-negative and HIV-positive patients. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2011;57:146–52.
- 7 Dheda K, Shean K, Zumla A, Badri M, Streicher EM, Page-Shipp L, et al. Early treatment outcomes and HIV status of patients with extensively drug-resistant tuberculosis in South Africa: a retrospective cohort study. *Lancet* 2010;375:1798–807.
- 8 World Health Organization (2008). Policy statement on molecular line probe assays for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Geneva, Suíça.
- 9 World Health Organization (2014). Companion handbook to the WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. WHO/HTM/TB/2014.11. Geneva, Suíça.
- 10 World Health Organization (2010). Treatment of tuberculosis: guidelines – 4th ed. WHO/HTM/TB/2009.420. Geneva, Suíça.
- 11 Bonnet M, Pardini M, Meacci F, Orru G, Yesikaya H, Jarosz T, et al. Treatment of tuberculosis in a region with high drug resistance: outcomes, drug resistance amplification and re-infection. *PLoS ONE* 2011;6:e23081.
- 12 World Health Organization (2011). Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis – 2011 update. WHO/HTM/TB/2011.6. Geneva, Suíça.
- 13 Caminero JA ed. Guidelines for clinical and operational management of drug-Resistant tuberculosis. Paris, France: International Union Against Tuberculosis and Lung Disease 2013.
- 14 Colijn C, Cohen T, Ganesh A, Murray M. Spontaneous emergence of multiple drug resistance in tuberculosis before and during therapy. *PLoS ONE* 2011;6:e18327.
- 15 World Health Organization (2010). Anti-tuberculosis drug resistance in the world – Fourth Global Report. WHO/HTM/TB/2008.394. Geneva, Suíça.
- 16 David HL. Probability distribution of drug-resistant mutants in unselected populations of *Mycobacterium tuberculosis*. *Applied Microbiology* 1970;20:810–4.
- 17 World Health Organization (1998). Laboratory services in tuberculosis control – Part III: Culture. WHO/TB/98.258. Geneva, Suíça.
- 18 World Health Organization (1998). Laboratory services in tuberculosis control – Part I: Organization and management. WHO/TB/98.258. Geneva, Suíça.
- 19 World Health Organization (1998). Laboratory services in tuberculosis control – Part II: Microscopy. WHO/TB/98.258. Geneva, Suíça.
- 20 World Health Organization (2010). Implementing new tuberculosis diagnostics. Policy Framework. WHO/HTM/TB/2015.11. Geneva, Suíça.
- 21 World Health Organization (2011). TB diagnostics and laboratory services – information note. Geneva, Suíça.
- 22 World Health Organization (2008). Policy guidance on drug-susceptibility testing (DST) of second-line antituberculosis drugs. WHO/HTM/TB/2008.392. Geneva, Suíça.
- 23 Antunes F. Resistência aos antibióticos em tuberculose. Direção-Geral da Saúde, Circular Normativa N.º:09/DT 29/05/2000.
- 24 Macedo AR, Antunes F. Detecção rápida da tuberculose multirresistente. Direção-Geral da Saúde, Circular Normativa N.º:12/DSCS/PNT 17/07/2008.
- 25 Viveiros M, Martins M, Couto I, Rodrigues L, Machado D, Portugal I, et al. Molecular tools for rapid identification and novel effective therapy against MDRTB/XDR TB infections. *Expert Review of Anti-Infective Therapy.* 2010;8:465–80.
- 26 Dominguez J, Boettger EC, Cirillo D, Cobelens F, Eisenach KD, Gagneux S, et al. Clinical implications of molecular drug resistance testing for *Mycobacterium tuberculosis*: a TBNET/RESIST-TB consensus statement. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2016;20:24–42.
- 27 Viveiros M, Leandro C, Rodrigues L, Almeida J, Bettencourt R, Couto I, et al. Direct application of the INNO-LiPA Rif.TB line-probe assay for rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains and detection of rifampin resistance in 360 smear-positive respiratory specimens from an area of high incidence of multidrug-resistant tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 2005;43:4880–4.
- 28 World Health Organization (2011). Rapid implementation of the Xpert MTB/RIF diagnostic test: technical and operational 'How-to'; practical considerations. WHO/HTM/TB/2011.2. Geneva, Suíça.
- 29 Rabna P, Ramos J, Ponce G, Sanca L, Mane M, Armada A, et al. Direct detection by the Xpert MTB/RIF assay and characterization of multi and poly drug-resistant tuberculosis in Guinea-Bissau, West Africa. *PLoS ONE* 2015;10:e0127536.
- 30 World Health Organization (2013). Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. Policy update. WHO/HTM/TB/2013.16. Geneva, Suíça.
- 31 Cambau E, Viveiros M, Machado D, Raskine L, Ritter T, Tortoli E, et al. Revisiting susceptibility testing in MDR-TB by a standardized quantitative phenotypic assessment in a European multicentre study. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70:686–96.
- 32 Fonseca Antunes MV. Testes de sensibilidade aos antituberculosos de 2ª Linha. Direção-Geral da Saúde, Circular Normativa N.º:01/DT 11/01/2007.
- 33 World Health Organization (2016). The use of molecular line probe assays for the detection of mutations associated with resistance to fluoroquinolones (FQs) and second-line injectable drugs (SLIDs). Policy guidance. WHO/HTM/TB/2016.07. Geneva, Suíça.
- 34 Ahuja SD, Ashkin D, Avendano M, Banerjee R, Bauer M, Bayona JN, et al. Multidrug resistant pulmonary tuberculosis treatment regimens and patient outcomes: an individual patient data meta-analysis of 9,153 patients. *PLoS Medicine.* 2012;9:e1001300.
- 35 World Health Organization (2011). The global plan to stop TB 2011–2015: Transforming the Fight – Towards elimination of tuberculosis. WHO/HTM/STB/2010.02. Geneva, Suíça.
- 36 Diseases WHOaIUATaL. Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis. World Health Organization and Organisation Mondiale de la Sante 1994.
- 37 Antunes ML, Aleixo-Dias J, Antunes AF, Pereira MF, Raymundo E, Rodrigues MF. Anti-tuberculosis drug resistance in Portugal. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2000;4:223–31.
- 38 World Health Organization (2014). Tuberculosis profile – Portugal. Available from: https://extranet.who.int/sree/Reports?op=Replet&name=%2FWHO_HQ_Reports

%FG%FPROD%FEXT%FTBCountryProfile&tISO=PT&LAN=EN&outtype=html

39 Macedo R, Santos Silva A, Simões MJ. Tuberculose multirresistente e extensivamente resistente em Portugal, 2008-2013. Observações - Boletim Epidemiológico do Instituto Nacional de Saúde Dr Ricardo Jorge 2014;3:11-4.

40 Villar M. Tuberculose multirresistente - Sinopse para a selecção dos regimes terapêuticos. Centro de referência nacional para a tuberculose multirresistente, Programa nacional de luta contra a tuberculose, Direção-Geral da Saúde 2011.

41 World Health Organization (2016). WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis - 2016 update. WHO/HTM/STB/2016.04. Geneva, Suíça.

42 Zhang Y, Yew WW. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Int J Tuberc Lung Dis. 2009;13:1320-30.

43 Machado D, Perdigão J, Ramos J, Couto I, Portugal I, Ritter C, et al. High-level resistance to isoniazid and ethionamide in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* of the Lisboa family is associated with *inhA* double mutations. J Antimicrob Chemoth. 2013;68:1728-32.

44 Gomes C. As 17 recomendações para a gestão da tuberculose multirresistente. Centro de referência nacional para a tuberculose multirresistente, Programa nacional de luta contra a tuberculose, Direção-Geral da Saúde 2011.

45 Falzon D, Gandhi N, Migliori GB, Sotgiu G, Cox HS, Holtz TH, et al. Resistance to fluoroquinolones and second-line injectable drugs: impact on multidrug-resistant TB outcomes. Eur Respir J. 2013;42:156-68.

46 Francis RS, Curwen MP. Major surgery for pulmonary tuberculosis: final report. Tubercle 1964;45:Suppl:5-79.

47 The PIH guide to the medical management of multidrug-resistant tuberculosis 2nd Edition. Partners In Health Boston, USA. USAID TB CARE II. 2003.

48 Sinclair D, Abba K, Grobler L, Sudarsanam TD. Nutritional supplements for people being treated for active tuberculosis. Cochrane Database Syst Ver. 2011:Cd006086.

49 Njire M, Tan Y, Mugweru J, Wang C, Guo J, Yew W, et al. Pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: Review and update. Adv Med Sci. 2016;61:63-71.

50 Avalos E, Catanzaro D, Catanzaro A, Ganiats T, Brodine S, Alcaraz J, et al. Frequency and geographic distribution of *gyrA* and *gyrB* mutations associated with fluoroquinolone resistance in clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates: a systematic review. PLoS ONE 2015;10:e0120470.

51 Varaine F, Rich ML. Tuberculosis: Practical guide for clinicians, nurses, laboratory and medical auxiliaries. 2014 Edition. Médecins Sans Frontières and Partners In Health. 2014.