ANDRÉA GOBETTI VIEIRA COELHO

**Tuberculose multirresistente e extensivamente resistente em
área metropolitana de elevada incidência – município de
Santos (SP), Brasil**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências.

Programa de Doenças Infecciosas e
Parasitárias

Orientador: Prof. Dr. Eliseu Alves
Waldman

São Paulo

2014

DEDICATÓRIA

Ao Edson, amigo, companheiro e parte integrante de meus projetos de vida, pela compreensão, cumplicidade e apoio incondicional em mais esse desafio.

A minha pequena Chiara, minha inspiração e razão de viver nos últimos 4 anos.

Aos meus pais, Edna e Ernesto, que são meu alicerce, "meu porto seguro", por todo amor, pelas palavras de apoio, incentivo em mais essa jornada.

A minhas irmãs Amanda e Alessandra pelas lições de vida.

Aos familiares que mesmo distantes sempre estiveram apoiando.

Sem vocês nenhuma conquista valeria a pena!!!!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pela saúde e pelas conquistas.

Ao meu orientador Prof. Dr. Eliseu Alves Waldman pela oportunidade de mais esta orientação, pelo exemplo de ser humano. Obrigado por toda confiança, humildade, paciência e apoio incondicional, em todos os momentos, principalmente nos mais difíceis que a vida me reservou nesse ano.

À amiga Ana Carolina pelo apoio durante essa longa jornada, pelos anos de convivência e amizade que jamais esquecerei.

À Lucilaine Ferrazoli pela amizade, auxílio e incentivo incondicional.

À Dr^a Vera Galesi, Coordenadora do Programa Estadual de Controle da Tuberculose – Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo, pelo apoio ao desenvolvimento da tese, permitindo o acesso aos dados epidemiológicos que constituem a base deste trabalho.

A todos os profissionais do Laboratório de Micobactérias – IAL Centro Laboratório Regional Santos, pelo apoio e compreensão durante o desenvolvimento do estudo.

A todos os profissionais do Programa Municipal de Controle da Tuberculose – Santos (SP), que sempre estiveram à disposição para discussão dos casos, incentivando e auxiliando durante toda a pesquisa.

À secretária Roseli pelo atendimento prestativo e ajuda em todos os momentos.

A toda equipe do Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade de São Paulo, pelo acolhimento e compromisso na formação científica.

A todos os meus sinceros amigos pelo apoio, paciência, solidariedade e entendimento de minhas ausências, sinto-me abençoada por tê-los em minha vida, ajudando em cada momento.

*Que as coisas são inatingíveis?
Ora! Isso não é motivo para não querê-
las. Que tristes seriam os caminhos,
sem a presença distante das estrelas.*

Mário Quintana

Esta dissertação ou tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de Siglas e Abreviaturas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 A Tuberculose Multirresistente	4
1.2 Fatores associados à Tuberculose Multirresistente	8
1.3 O Diagnóstico da Tuberculose Multirresistente	12
1.4 A Tuberculose Multirresistente no Mundo.....	20
1.5 A Tuberculose Multirresistente no Brasil, no Estado de São Paulo e no Município de Santos (SP)	24
2 OBJETIVOS.....	28
3 MATERIAL E MÉTODO.....	29
3.1 Delineamento de estudo	29
3.2 Caracterização da Área de Estudo	29
3.3 População de referência	31
3.4 Definições e Conceitos	32
3.4.1 Definição de casos de TB Pulmonar	32
3.4.3 Definição de Resistência Primária e Adquirida	32
3.5 População de Estudo.....	33
3.5.1 Critérios de Exclusão	33
3.6 Fontes de Dados	33
3.7 Variáveis de estudo	34
3.8 Procedimentos laboratoriais	34
3.8.1 Baciloscopia	34
3.8.2 Cultura.....	35
3.8.3 Identificação	36
3.8.4 Teste de Sensibilidade às Drogas.....	37
3.8.5 Caracterização molecular das cepas de <i>M. tuberculosis</i> por RFLP- IS6110.....	38
3.8.6 Análise do perfil genético das cepas de <i>M. tuberculosis</i> pelo método RFLP-IS6110	39

3.9 Criação e Manejo do Banco de dados	40
3.10 Análise dos dados	41
3.11 Limitações do Estudo.....	42
3.12 Considerações Éticas da pesquisa	42
4 RESULTADOS.....	44
5 DISCUSSÃO	61
6 CONCLUSÕES	70
7 ANEXOS	72
8 REFERÊNCIAS*	75

LISTA DE ABREVIATURAS

AK	Amicacina
BD	Becton Dickinson
CA	Capreomicina
CDC	Centers for Disease Control
CLR	Centro Laboratório Regional
CVE	Centro de Vigilância Epidemiológica
DOTS	Tratamento Diretamente Observado
E	Esquema de tratamento
EMB	Etambutol
ETH	Etionamida
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INH	Isoniazida
IAL	Instituto Adolfo Lutz
KA	Canamicina
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IPVS	Índice Paulista de Vulnerabilidade Social
<i>IS6110</i>	Sequencia de inserção 6110
IUATLD	International Union Against Tuberculosis and Lung Disease
LJ	Lowenstein - Jensen
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
MNT	Micobactéria Não Tuberculosa
MS	Ministério da Saúde
µg	microgrma
OADC	Ácido Oléico, Abumina, Dextrose e Catalase
OF	Ofloxacina
OMS/WHO	Organização Mundial da Saúde
OPAS/PAHO	Organização Pan-Americana de Saúde
PCR	Reação da Cadeia da Polimerase

PNB	ácido p- nitrobenzóico
PNCT	Programa Nacional de Controle da Tuberculose
PRA	Polimerase Reaction Restricion Analysis
PZA	Pirazinamida
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Polimorfismo de fragmentos de restrição)
RIF	Rifampicina
rpoβ	Gene que codifica a RNA polimerase
SDS	Dodecil – Sulfato de Sódio
SEADE	Sistema Estadual de Análise de Dados
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
SIGH	Sistema de Informação e Gerenciamento Hospitalar
SM	Estreptomicina
SINAN	Sistema Nacional de Agravos de Notificação
SP	São Paulo
SSC	Solução Salina com Citrato
TAE	Tris – ácido acético - EDTA
TB	Tuberculose
TBP	Tuberculose Pulmonar
TBMR	Tuberculose Multirresistente
TBXR	Tuberculose Extensivamente Resistente
TS	Teste de Sensibilidade às Drogas
WDF	World Diabetes Foundation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Taxa estimada de incidência global de tuberculose no mundo, 2012.....	3
Figura 2 -	Países que notificaram ao menos um caso de TBXR até o final de 2012.....	8
Figura 3 -	Sistema automatizado de cultura MGIT960 TM - <i>Mycobacteria Growth Indicator Tube</i> (Becton & Dickison).....	14
Figura 4 -	Equipamento e cartuxo do sistema Xpert® MTB/RIF.....	18
Figura 5 -	Casos de TBMR notificados (número absoluto), 2011.....	23
Figura 6 -	Classificação Índice Paulista de Vulnerabilidade Social (IPVS). Município de Santos.....	30
Figura 7 -	Procedimento de descontaminação e digestão da amostra – Método de Petroff.....	35
Figura 8 -	Representação esquemática da seleção do grupo estudado. Município de Santos (SP), Brasil. 2011-2012.....	45
Figura 9 -	Taxa média anula de incidencia de TBP na população de 15 anos ou mais, segundo área geográfica e região de residência, por 100.000 habitantes/ano. Município de Santos (SP), Brasil. 2011-2012.....	46
Figura 10 -	Representação esquemática do resultado dos testes de sensibilidade. Município de Santos (SP), Brasil. 2011-2012.....	51
Figura 11 -	Diagrama da evolução dos casos TBMR e TBXR. Município de Santos (SP), Brasil. 2011-2012.....	51
Figura 12 -	Diagrama da evolução dos casos monoresistentes ou outros perfis de resistência. Município de Santos (SP), Brasil. 2011-2012.....	55

Figura 13 -	Distribuição espacial dos casos de TBP resistentes a ao menos uma droga, segundo índice de vulnerabilidade social. Município de Santos (SP), Brasil. 2011-2012.....	56
Figura 14 -	Dendrograma dos diferentes padrões de RFLP encontrados em isolados de <i>M. tuberculosis</i> resistentes a ao menos uma droga, segundo características do caso. Município de Santos (SP), Brasil. 2011-2012.....	57
Figura 15 -	Distribuição espacial dos clusters identificados, segundo índice de vulnerabilidade social. Município de Santos (SP), Brasil. 2011-2012.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características dos casos de TBP selecionados e não selecionados para o estudo, segundo caracteres sociodemográficos, história atual e pregressa da doença e desfechos. Município de Santos (SP), Brasil, 2011-2012.....	48
Tabela 2 -	Características da TBP segundo sociodemográficas, comorbidades, relativas a sensibilidade a drogas e esquema terapêutico. Município de Santos (SP), Brasil, 2011-2012.....	49
Tabela 3 -	Resistência a drogas de primeira e segunda linha entre <i>M. tuberculosis</i> isolados de casos de TBP. Município de Santos (SP), Brasil, 2011-2012.....	52
Tabela 4 -	Características dos pacientes com TBP, com resistência a ao menos uma droga. Município de Santos (SP), Brasil, 2011-2012.....	53
Tabela 5 -	Análise da associação entre as co-variáveis e genotipagem (RFLP) padrão (Cluster ou Não - cluster) de isolados de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> de casos de TBP. Município de Santos (SP), Brasil, 2011-2012.....	60

RESUMO

Coelho AGV. *Tuberculose multirresistente e extensivamente resistente em área metropolitana de elevada incidência – município de Santos (SP), Brasil*. [tese] São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

INTRODUÇÃO: A incidência de tuberculose (TB) em Santos (SP) situa-se em 73/100.000 habitantes-ano. A prevalência média de coinfeção TB/HIV é de 16%, taxas de cura e abandono de tratamento, entre casos novos são, respectivamente, 71% e 12%. Tais indicadores sugerem elevado risco para TB multidroga resistente (TBMR) no município, com incidência estimada em 1,9/100.000 habitantes-ano. **OBJETIVO:** Descrever e analisar o perfil de sensibilidade às drogas (TS) de primeira e segunda linha de tratamento entre pacientes com TB pulmonar (TBP), estimar a incidência de TBMR e a proporção de TB extensivamente resistente (TBXR); analisar aspectos moleculares, epidemiológicos e institucionais dos casos de TBP resistentes em Santos (SP). **MÉTODOS:** Estudo descritivo de uma coorte de pacientes de TBP, com início de tratamento ou retratamento entre 01 de janeiro de 2011 a 31 de dezembro de 2012. Definiu-se como caso de TBP, indivíduos com 15 anos ou mais, de ambos os sexos, residentes no município de Santos, com manifestações clínicas compatíveis com TBP e confirmação por cultura com isolamento de *Mycobacterium tuberculosis*. As variáveis de interesse para o estudo foram as características sociodemográficas, história atual e pregressa de TB, aspectos relativos ao tratamento, co-morbidades, ao diagnóstico e resistência a drogas. Para as análises comparativas entre proporções foram usados os testes qui-quadrado de Pearson e o Exato de Fisher e para variáveis contínuas o teste *T de Student* ou o de Kruskal – Wallis. Os perfis genéticos dos isolados resistentes a ao menos uma droga foram obtidos pela técnica *RLFP* e analisados pelo programa Bionumerics versão 5.0 (Applied Maths – Bélgica). A descrição da distribuição espacial da TB resistentes e clusters foram feitas mediante a inserção dos casos no mapa de Santos, por endereço de residência, segundo o índice de vulnerabilidade social. **RESULTADOS:** Dos 263 casos de TBP selecionados, 68,4% (180/263) eram do sexo masculino, a mediana da idade foi de 38 anos, 8,7% (23/263) eram diabéticos; 20,4% (42/206) dos casos novos apresentavam ao menos um fator de risco para TBMR; destacando-se entre estes casos 10,7% (22/206) de infecção HIV/TB; 47,3% (123/260) tiveram tratamento supervisionado, 14,7% (91/617) dos contatos foram examinados, 18,6% (49/263) foram hospitalizados durante o tratamento, perfazendo uma média de 145,4 dias por paciente. Entre os casos resistentes a ao menos uma droga, a resistência à isoniazida foi 8,4% (22/263) e à rifampicina 3,8% (10/263) dos casos. A TBMR primária foi encontrada em 1,9% (4/206) dos casos e destes 25,0% (1/4) eram TBXR. A incidência média anual de TBMR foi de 0,57/100,000 habitantes. Dos 25 isolados resistentes ao menos uma droga, submetidos à RFLP, 12 (48,0%) foram agrupados em seis grupos genéticos, com dois pacientes em cada grupo. **CONCLUSÕES:** A elevada proporção TBMR primária, com um caso de TBXR enfatizam a necessidade de universalizar a cultura e TS, ampliar a cobertura do tratamento supervisionado, a investigação rotineira dos contatos e o monitoramento da resistência a drogas. O fortalecimento da vigilância da resistência às drogas é

indispensável para o contínuo aperfeiçoamento do Programa de Controle da TB, especialmente em regiões de elevada carga da doença.

Descritores: Tuberculose Pulmonar; Epidemiologia, Tuberculose Resistente a Múltiplos Medicamentos; Tuberculose Extensivamente resistente a Drogas, Polimorfismo de Fragmentos de Restrição.

ABSTRACT

Coelho AGV. *Multidrug and extensively drug-resistant tuberculosis in the metropolitan area of high incidence - the city of Santos (SP), Brazil*. [thesis] "São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2014.

INTRODUCTION: The incidence of tuberculosis (TB) in Santos (SP) is located around 73 / 100,000-year, approximately double that found on average in the country. The average prevalence of TB / HIV is 16% cure rates and treatment dropout among new cases are, respectively, 71% and 12%. Such indicators suggest high risk for multidrug-resistant TB (MR-TB) in the city, with the incidence estimated at 1.9 / 100,000-year. **OBJECTIVE:** To describe and analyze the sensitivity to drugs of first and second line treatment of patients with pulmonary TB (PTB) to estimate the incidence of MR-TB and extensively drug-resistant TB (TBXR), describe molecular and institutional aspects, spatial distribution, epidemiological PTB resistant cases in the city of Santos (SP). **METHODS:** A descriptive study of a cohort of patients with PTB residing in the city who started treatment or retreatment in the period January 2011 to December 31, 2012. The case definition PTB individuals 15 years or more, both sexes, living in the city of Santos (SP), who present clinical manifestations compatible with PTB and whose confirmation was made by culture with isolation of *M. tuberculosis*. The variables of interest for the study were: bacteriological / laboratory socio-demographic characteristics, current and previous history of TB, aspects related to treatment, and comorbidities. For comparative analyzes of proportions the chi-squared tests and Fisher's exact were used for continuous variables and the Student t test or the Kruskal - Wallis. The genetic profiles of isolates resistant to at least one drug were obtained by RFLP (length polymorphism restriction fragment) and analyzed using version BioNumerics 5.0 (Applied Maths - Belgium) software. The description of the spatial distribution of resistant TB and the clusters was made by inserting the cases in Santos map, by address of residence, which was according to the index of social vulnerability. **RESULTS:** Of the 263 cases of PTB selected, 68.4% (180/263) were male, the median age was 38 years, 8.7% (23/263) were diabetes; 20.4% (42/206) of new cases had at least one risk factor for MR-TB, especially 10.7% (22/206) of making HIV / TB; 47.3% (123/260) underwent supervised treatment, 14.7% (91/617) of the contacts were examined, 18.6% (49/263) were hospitalized during treatment, totaling 7127 days of hospitalization with a mean 145.4 days per patient. Among the cases resistant to at least one drug resistance to isoniazid 8.4% (22/263) and rifampin 3.8% (10/263) of the cases was found. The primary MR-TB was found in 1.9% (4/206) of MR-TB cases and of these 25.0% (1/4) were TBXR. The average annual incidence of MDR-TB was 0.57/100,000 inhabitants. Of the 25 isolates resistant least one drug, subjected to molecular characterization of *IS6110*, 12 (48.0%) were grouped in six clusters, with each group including two isolates. **CONCLUSIONS:** A high proportion of primary MR-TB, including a case of TBXR emphasizes the need to universalize culture and TS, expand the coverage of supervised treatment, routine investigation of contacts and monitoring of drug resistance. The strengthening of the surveillance of drug resistance is essential for continuous

improvement of the TB Control Program, especially in regions of high disease burden.

Descriptors: Tuberculosis Pulmonary, Epidemiology, Tuberculosis Multidrug - Resistance, Extensively Drug – Resistant Tuberculosis, Polymorphism, Restriction Fragment Length.

1 INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma das enfermidades infecciosas com registros mais antigos na história da humanidade, permanecendo como um desafio à saúde pública pela sua magnitude. Estima-se que um terço da humanidade apresente infecção tuberculosa latente e que a doença esteja associada à cerca de 1,7 milhões de óbitos anuais em todo o globo (Lawn & Zumla, 2011).

Seu agente etiológico é o *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) sendo a forma clínica mais comum a pulmonar. A via de transmissão mais frequente ocorre de pessoa a pessoa a partir de uma fonte de infecção com lesões pulmonares, mas pode também ser transmitida indiretamente. Inúmeros fatores relativos ao agente, ao ambiente, à fonte de infecção e seus contatos, condicionam a sua transmissão. O risco de infecção e de evolução para a doença é maior entre os contatos próximos dos casos infectantes (Murray et al., 1993; Morrison et al., 2008).

Sabemos que um fator de risco para a infecção pelo bacilo é o contato com indivíduo portador da doença ativa e a probabilidade de se ter tal contato é determinada indiretamente pela carga da doença na população. Assim, pessoas que vivem ou trabalham em ambientes onde a prevalência de TB é particularmente elevada devem ser objeto de condutas especiais, como por exemplo, populações privadas de liberdade, profissionais de unidades prisionais e alguns profissionais de saúde (Lonnroth et al., 2009).

O risco de exposição é também determinado pelo ambiente físico no qual o contato ocorre, incluindo aspectos da aglomeração, o fluxo de ar e a umidade (Rieder, 1999). Outros fatores a serem destacados são aqueles que

comprometem a defesa natural do organismo contra a doença, tais como a infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), a desnutrição, o tabagismo, a silicose, a diabetes (Stevenson et al., 2007), assim como, algumas doenças sistêmicas crônicas e imunossupressoras (Rieder, 1999). Existem evidências de que a poluição do ar é um fator de risco para TB. Depressão e stress podem ter um efeito negativo sobre o funcionamento do sistema imunológico e poderiam, por conseguinte, em teoria, aumentar o risco a doença (Lonnroth et al., 2009).

Drogas efetivas estão disponíveis há mais de 50 anos, mas mesmo assim, a cada 15 segundos, uma pessoa morre de TB no mundo e a cada segundo uma pessoa é infectada. Estudos comprovam que cada indivíduo doente, se bacilífero, irá infectar, em média, 10 a 15 pessoas a cada ano de vida (Dye 2005 apud Montoro e Rodriguez, 2007).

Estima-se que desde 2004, a incidência média da TB, em todo o globo, venha caindo em torno de 1% ao ano. No entanto, em 2012, teria ocorrido cerca de 8,6 milhões de casos novos; 82% destes em 22 países, entre eles o Brasil, com 83.000 casos, ocupando atualmente a 17ª posição (WHO, 2013a) (Figura 1). Dados relativos a 2012, apontam a ocorrência de 268.400 casos de TB, nas Américas. Dois terços (67%) destes na América do Sul. Nesse continente, 16 países concentram 82% dos casos de TB, o Brasil apresenta 35% seguido do Peru com 15% (PAHO, 2013).

Atualmente, a tendência da TB tem sido fortemente influenciada pela Aids, estimando-se que 12% a 14% dos casos de TB, em todo o mundo, estejam associados à infecção pelo HIV, sendo que em algumas partes da

África do Sul, mais de 50% dos casos de TB eram TB/VIH (Morrison et al., 2008; Glaziou et al., 2013; WHO, 2013).

FONTE: WHO, 2013 a.

Figura 1 – Taxa estimada de incidência global de tuberculose no mundo, 2012

As desigualdades sociais, os fluxos migratórios, as deficiências do sistema de saúde, a insuficiência de pesquisas visando o desenvolvimento de novos medicamentos e vacinas, e a pandemia da Aids constituem os principais obstáculos para o controle da TB (Barreira e Grangeiro, 2007; Lindoso et al., 2008).

Nesse cenário, a partir da década de 1990, os programas de controle da TB, especialmente nos países em desenvolvimento, passam a enfrentar um desafio adicional, a emergência, com caráter epidêmico, de cepas de *M. tuberculosis* resistentes aos antibióticos utilizados nos esquemas de tratamento e, mais recentemente, a tuberculose extensivamente resistente (TBXR) (Dalcomo et al., 2007; Matteelli et al., 2014).

1.1 A Tuberculose Multirresistente

A resistência do *M. tuberculosis* aos antibióticos, tem sido descrita desde a época da introdução da estreptomicina (SM), e hoje representa um dos maiores desafios para o controle da doença em todo o globo (Matteelli et al., 2014).

A resistência do *M. tuberculosis* aos fármacos ocorre apenas por mutação, sendo um fenômeno essencialmente relacionado às grandes populações bacterianas, podendo ser resumida em Natural e Inicial. A resistência Natural decorre de mutação genética ocorrida ao acaso, independente de tratamento prévio, é diretamente proporcional ao número de bacilos, essas são menos frequentes para a rifampicina (RIF), numa população selvagem temos um bacilo resistente a essa droga para cada 10 milhões de *M. tuberculosis*, sendo um pouco mais frequentes para a Isoniazida (INH), Etambutol (EMB) e a SM (um em cada 100 a 10.000 bacilos, respectivamente). As mutações naturais se reduzem drasticamente com a ação conjunta dos medicamentos, sobretudo aqueles com atividade bactericida precoce, assim o esquema quimioterápico deve sempre conter duas ou mais drogas para que aqueles bacilos resistentes a um ou mais fármacos sejam destruídos (Campos, 2007; Dalcomo, 2007; Dalcomo, 2012).

A resistência Inicial é observada no momento em que o paciente inicia o tratamento. Neste caso estão incluídos os pacientes com resistência primária, isto é, ausência de tratamento anterior, ou aqueles com resistência adquirida/secundária, na certeza de um tratamento prévio (Dalcomo et al., 2007; Brasil, 2011a; Zumla et al., 2012).

Diante desses conceitos, podemos citar como indicador clínico de

desenvolvimento da tuberculose multidroga resistente (TBMR) o contato prévio com o fármaco, sendo assim considerado um fenômeno decorrente da aplicação inadequada dos esquemas terapêuticos. A ausência de esclarecimentos ao doente sobre a importância de se seguir o tratamento até o seu término, ou a falha no sistema que deve garantir a provisão regular dos quimioterápicos são fatores que podem gerar irregularidade ou abandono do tratamento. Diferente do que se pensou no passado, cepas resistentes podem propagar-se a outros indivíduos de maneira semelhante ao que ocorre com as susceptíveis às drogas (Glaziou et al., 2013).

De 1985 a 1992 os Estados Unidos foram surpreendidos com o ressurgimento da TB simultaneamente à elevação dos casos de TBMR, definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como casos de TB associados à infecção pelo *M. tuberculosis* resistente *in vitro* às duas drogas anti-TB com maior poder bactericida, a INH e a RIF, com ou sem relato de resistência a outras drogas (Faustini e Perucci, 2006; CDC, 2009; Brasil, 2011a).

Um problema adicional e de maior gravidade relativo à resistência às drogas antituberculose surge em 2006, com a identificação de um surto de TB resistente a múltiplas drogas na África do Sul. Nessa oportunidade foram identificados 221 casos de TBMR em uma área rural da pequena cidade de Tugela Ferry, província de KwaZulu-Natal, com alta prevalência de HIV. Desse total, 53 (24%) eram também resistentes a duas das quatro drogas de segunda linha testadas (canamicina e ciprofloxacina). Metade dos casos não apresentava tratamento prévio de TB, todavia 67% tinham uma hospitalização recente. A letalidade foi elevadíssima (98%), com tempo médio de sobrevida de

16 dias, a partir do diagnóstico. Além disso, 44 dos pacientes testados para HIV eram positivos (WHO, 2006; Teixeira, 2007).

Esse evento levou a OMS a estabelecer o conceito de TBXR, sendo definida como uma nova forma de TB constituída por casos de TBMR com resistência a uma ou mais quilononas e, pelo menos, a uma das três drogas injetáveis usadas como medicamento de segunda linha no tratamento da TB (capreomicina, canamicina e amicacina) (Kliiman e Altraja, 2009; WHO, 2013b).

Para melhor conhecer a gravidade do problema, a OMS e a União Internacional Contra Tuberculose e Doenças de Pulmão (IUATLD), em 2006, avaliaram a informação de 25 laboratórios de referência, distribuídos nos cinco continentes. Como resultado, das 17.690 culturas positivas para *M. tuberculosis* analisadas, 20% eram TBMR e 2% TBXR (Shah et al., 2007). Em cinco países do Leste Europeu e da Ásia Ocidental, dos 406 casos de TBMR diagnosticados, 14% (55/406) eram TBXR, constituindo a taxa mais elevada entre as regiões estudadas. A América Central e do Sul (dados de Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guiana Francesa, Guatemala, Guiana, México e Peru) mostrou que, entre 985 culturas testadas, 55% (543) eram TBMR e dessas 6% (32) correspondiam a TBXR (CDC, 2006).

Em função de sua relevância, a partir da identificação de casos de TBXR, desenvolveram-se diversos estudos buscando conhecer a sua magnitude e abrangência. Na análise retrospectiva de dados em regiões do globo onde a resistência às drogas anti-TB estava sendo monitorada, verificou-se nos Estados Unidos que 3% dos 1633 casos conhecidos de TBMR eram atribuídos à TBXR (WHO, 2010).

Casos com TBXR pode ser virtualmente incurável, dependendo do nível

de resistência aos medicamentos de segunda linha e da eficiência do sistema de saúde. Além disso, as condições inerentes à imunidade do paciente podem contribuir para as altas taxas de morbidade e mortalidade associadas à TBXR (Matteelli et al., 2014).

Falzon et al (2013) ao analisarem o impacto da resistência adicional às drogas de segunda linha, fluoroquinolonas e/ou injetáveis no resultado do tratamento, ressaltam que, os casos de TBXR tinham menores taxas de sucesso do tratamento e conseqüentemente maiores taxas de falência, recidiva e morte. Os autores destacam também que nesses pacientes, o sucesso do tratamento foi maior, quando se utilizou pelo menos seis medicamentos na fase intensiva e quatro em fase de continuação; as chances de sucesso do tratamento foi maximizado quando a fase intensiva situou-se entre 6 e 9 meses e a duração total do tratamento variou entre 20 e 25 meses.

Estudos destacam que em países com taxas altas de HIV e recursos limitados para os serviços de saúde, são esperados números significativos de TBXR. A partir de 2007 na África do Sul, onde há uma prevalência de HIV estimada em 10%, foram notificados 352 casos de TBXR, no entanto, a magnitude do problema é provavelmente subestimada pelo fato da cultura e do teste de sensibilidade às drogas (TS) serem executados numa pequena fração de pacientes de TB (CCD, 2009).

A TBXR já foi registrada em todos os continentes. Até o final de 2012, 92 países relataram pelo menos um caso de TBXR (Figura 2), em média 9,6% dos casos de TBMR eram TBXR (Abubakar et al., 2013; Glaziou et al., 2013; WHO, 2013a; Matteelli et al., 2014; Günther, 2014). Diante de tal situação, devido as graves restrições terapêuticas, a OMS declarou a TBXR uma ameaça à saúde

pública mundial e ao controle eficaz da TB, especialmente nos países de elevada prevalência do vírus HIV (Vilariça et al., 2008; Nathanson et al., 2010).

Estudos recentes sugerem que cepas resistentes tenham maior transmissibilidade do que as sensíveis, o que torna plausível considerar a possibilidade do aumento das taxas de TBMR, mesmo num cenário de queda da incidência da TB (Luciani et al., 2009), portanto, a TBMR e a TBXR apresentam o potencial de induzir a reemergência da TB em condições de difícil controle (Kliiman e Altraj, 2009; Abubakar, 2013).

FONTE: WHO, 2013 a.

Figura 2 - Países que notificaram ao menos um caso de TBXR até o final de 2012

1.2 Fatores associados à Tuberculose Multirresistente

De acordo com Caminero (2010), os fatores de risco para resistência podem ser divididos em dois grandes grupos, o primeiro formado por aqueles

que facilitam a seleção da resistência na comunidade e o segundo por algumas condições especiais que, aparentemente, tornam os pacientes mais vulneráveis à resistência.

Entre os primeiros, temos principalmente os relacionados com o desempenho insuficiente dos Programas Nacionais de Controle da Tuberculose (PNCT), seja pela não implementação da estratégia DOTS – Tratamento Diretamente Observado, ou por outras dificuldades em cumprir de forma efetiva as estratégias proposta pelo próprio programa, entre elas: insuficiência de recursos e/ou da sua organização, normas inadequadas ou falta de treinamento, falta de padronização do tratamento ou de garantia da qualidade e/ou do suprimento regular dos medicamentos, insuficientes drogas de segunda linha, assim como ausência de monitoramento do tratamento, ausência de métodos eficazes, baratos e capazes de diagnosticar rapidamente a TBMR (Rossetti et al., 2002; Caminero, 2010; Abubakar, 2013).

No segundo grupo, um dos preditores mais citados na literatura, inclusive em pesquisas efetuadas no Brasil é o tratamento prévio de TB (Melo et al., 2003; Telles et al., 2005; Baliza et al. , 2008; García et al., 2009; Faustini et al., 2006), seguido de (a): lesão cavitária, diabetes, alcoolismo, uso de drogas ilícitas, coinfeção TB/HIV, este último envolvendo outros fatores como a interação farmacológica (Kritski et al., 1997; Espinal et al., 2001; WHO, 2010).

Pessoas HIV positivos ou que possuem outros tipos de insuficiência da imunidade, como a diabete, por exemplo, são mais vulneráveis à progressão da infecção pelo *M. tuberculosis* para doença ativa e, portanto, sendo a infecção com TBXR motivo especial de preocupação (Chen et al., 2014). Em

países com taxas altas de HIV e recursos limitados para cuidados à saúde, é de se esperar números significativos de casos de TBXR (CCD, 2009).

Fracassos de tratamento e morte subsequente são mais comuns entre pacientes com TBXR, possivelmente devido aos efeitos adversos das drogas usadas para se tratar a enfermidade. No mundo, entre os pacientes com TBMR que iniciaram tratamento em 2009, 48% foram tratados com sucesso (Glaziou et al., 2013). A mortalidade, falência ou abandono foram observados em, 15% e 28%, respectivamente. No mesmo período, entre 200 pacientes com TBXR, em 14 países analisados, o sucesso do tratamento foi possível em 33% dos casos e 26% foram a óbito (Glaziou et al., 2013).

No Brasil, embora se tenha a distribuição gratuita da medicação, a efetividade do tratamento da TB apresenta variações. Problemas na adesão ao tratamento, como o uso incorreto ou irregular do medicamento e o abandono do tratamento, são apontados como fatores importantes que afetam a efetividade e, conseqüentemente, o controle da doença. Buscando reverter a situação o país implantou, a partir de 2010, aos casos novos da doença, a utilização de medicamentos combinados – Dose Fixa Combinada (DFC)¹, em um único comprimido, sendo medida adicional para aumentar a adesão ao tratamento, visto que, facilita a gestão das medicações, diminui o erro de prescrição, o risco de monoterapia e a quantidade de comprimidos a serem ingeridos (Ferreira, 2013).

Determinantes sociais e demográficas aparecem na literatura como fatores de risco importantes ao desenvolvimento de TBXR. Em um estudo prospectivo recente envolvendo 1.278 pacientes com TBMR de oito países, as

¹ DFC: Nos dois primeiros meses Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida, Etambutol, e nos quatro meses restantes do tratamento Rifampicina e Isoniazida.

mulheres tiveram maior prevalência de resistência às fluoroquinolonas do que os homens, e, assim, maior risco TBXR. Em todos os países estudados, o desemprego, alcoolismo e tabagismo mostraram-se como fatores de risco adicionais para a resistência aos medicamentos de segunda linha (Dalton et al., 2012).

Telles et al. (2005) ao analisar os fatores de risco para TBMR numa comunidade urbana do município de São Paulo (SP), relatou forte associação com história pregressa de TB e com hospitalização nos 24 meses prévios ao diagnóstico, porém, não observou associação entre a TBMR e coinfeção TB/HIV, concordando com outros estudos brasileiros (Melo et al., 2003; Barroso et al., 2003; Brito et al., 2004; Coelho et al., 2007).

A controvérsia sobre a existência de associação entre infecção pelo HIV e a TBMR tem sido muito discutida, estudos realizados em países desenvolvidos e africanos têm confirmado essa associação, mas não no Brasil (Spellman et al., 1998; Telles et al., 2005).

Barbosa e Levino (2013) ao realizarem revisão sistemática da literatura buscando identificar a infecção pelo HIV como um fator de risco para TBMR confirmam as controvérsias a cerca dessa questão. Nessa publicação são apresentados três estudos brasileiros (Lemos et al, 2004; Rozman et al., 2007; Vilariça, et al.2008) que analisaram a associação entre TBMR e a infecção pelo HIV, porém, os resultados não confirmaram essa hipótese. No entanto, alguns estudos demonstraram taxas maiores de resistência entre os pacientes HIV negativos (Suchindran, 2009).

Para pacientes TBXR estudos mais recentes não mostram diferenças significativas entre pacientes HIV positivos em terapia anti-retroviral altamente

ativa e HIV negativo (Dheda, 2010).

1. 3 O Diagnóstico da Tuberculose Multirresistente

Diante do quadro epidemiológico da TB, de surtos da doença por cepas multirresistentes e o aumento da incidência de infecções causadas por outras espécies de micobactérias, o diagnóstico precoce da TB e de micobacterioses é um desafio constante para os programas de controle da doença (Coelho et al. 2005; Ardito et al., 2001; Ramsay, 2010; Lemos e Matos, 2013).

O diagnóstico rápido da TB e da TBMR traz benefícios ao paciente, bem como para a saúde pública, incluindo melhor prognóstico, o aumento da sobrevida, a prevenção da aquisição de mais resistência às drogas e redução a propagação de cepas resistentes aos medicamentos em populações vulneráveis (WHO, 2009).

O diagnóstico laboratorial da TBP depende em grande parte do exame microscópico direto da amostra de escarro, a baciloscopia. No entanto, apesar de ser simples, rápido, confiável e econômico, a técnica tem baixa sensibilidade, identifica apenas a presença de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) e não pode identificar estirpes resistentes aos medicamentos (WHO, 2007; Brasil, 2008; Muyoyeta, 2009; Dorman, 2010).

A cultura para o isolamento da *M. tuberculosis* é mais sensível que a baciloscopia e, além disso, permite a posterior identificação da espécie e realização do TS. A especificidade da cultura é próxima de 100% e pode aumentar em até 30% o diagnóstico bacteriológico da doença se comparado ao uso exclusivo da baciloscopia. A cultura e TS convencionais em meio sólido requerem longos períodos para confirmação de crescimento da micobactéria e

detecção da resistência às drogas, atrasando o tratamento adequado, na ausência de um diagnóstico confirmado; dando continuidade a transmissão de cepas resistentes, e consequentemente amplificação da resistência (Brasil, 2008; Brasil, 2011a; Dorman, 2010).

Assim, a partir de 2007, com o intuito de gerar respostas mais efetivas à emergência da coinfeção TB/HIV e da TBMR, a OMS e o Grupo Técnico Assessor para TB recomendou o uso da cultura líquida para a detecção de *M. tuberculosis* e de TS aos fármacos em países desenvolvidos e em desenvolvimento, uma vez que agiliza e fornece maior qualidade ao tratamento, sendo padrão ouro para confirmação bacteriológica da TB e detecção de outras micobactérias (Pottathil et al., 2011; Huf e Kritski, 2012).

Sistemas de cultura como o MGIT960TM - *Mycobacteria Growth Indicator Tube* (Becton & Dickison) (Figura 3) é alternativa mais sensível e rápida do que a cultura tradicional. O sistema é automatizado, não radiométrico, permite a detecção do consumo de oxigênio pela bactéria, em tubos de ensaio contendo meio líquido *Middlebrook 7H9* e rutênio, metal que funciona como sensor químico fluorescente. Estudos comprovam ser um método de fácil execução, com sensibilidade elevada, variando de 82% a 96%, na detecção da micobactéria diretamente no espécime clínico, num período de 1 a 3 semanas, conforme a carga bacilar do paciente (Nyendak, 2009; Muyoyeta, 2009).

No entanto, a cultura líquida apresenta peculiaridades que precisam ser avaliadas em condição de rotina, como taxa de contaminação, aumento de isolamento de micobactérias não tuberculosas (MNT) e de culturas mistas, como também a influência destes aspectos nos exames subsequentes de identificação da espécie e TS. Estudos mostram variações no índice de

contaminação, em laboratórios com equipes experientes, aproximadamente 5-10% das amostras não pode produzir resultados por causa da contaminação, destacando a associação deste com características da clientela atendida e aos procedimentos de coleta, transporte e armazenamento da amostra biológica. Soma-se ainda a complexidade e custo, bem como a necessidade de infraestrutura laboratorial, o que limita a adesão ao método em muitos contextos de recursos limitados (Almeida et al., 2005; Chien et al., 2000; WHO, 2009; Lemos e Matos, 2013).

FONTE: (adaptado) Becton & Dickison, 2006.

Figura 3 – Sistema automatizado de cultura MGIT960™ - *Mycobacteria Growth Indicator Tube* (Becton & Dickison)

Nenhum teste atualmente satisfaz todas as exigências do "rápido", "barato" e "fácil", mas a expansão da capacidade de cultura é uma necessidade urgente para enfrentar os desafios, devido à epidemia de TB associada ao HIV e da TBMR (WHO, 2007).

Diante da crescente magnitude de TBMR e TBXR no mundo, a OMS tem priorizado maior acesso ao TS e algumas técnicas aplicando a biologia

molecular estão sendo utilizadas no diagnóstico da resistência do complexo *M.tuberculosis* a INH e RIF, e é com o uso delas que a OMS se propõe a cumprir a meta diagnosticar 70% e curar 85% dos casos de TB no mundo (Campos, 2006; Freitas et al., 2009; Anthony et al., 2009).

Importante ressaltar que o uso de ensaios moleculares reduz o tempo para o diagnóstico da TBMR e TBXR de semanas ou meses para uma questão de dias (Zumlla et al., 2012).

Entre as técnicas moleculares temos a da amplificação do DNA, PCR (Reação em Cadeia de Polimerase), como uma boa alternativa de diagnóstico da TB, devido sua rapidez e acurácia. Em amostras com baciloscopia positiva a sensibilidade do método pode chegar a 96% e em esfregaços negativos pode variar entre 66% e 72%. O inconveniente no uso isolado desse método é a impossibilidade de realização do TS (Campos, 2006; Freitas et al., 2009).

O teste Amplified *M. tuberculosis* direct (AMTD; Gen-Probe, San Diego, CA, EUA) é utilizado para amostras de pacientes com sinais e sintomas compatíveis com a TBP, detectando o *RNA*² da micobactéria em aproximadamente 3 horas. Aprovado para amostras respiratórias com baciloscopia positiva desde 1995 e, após um aprimoramento em 1999, o teste foi aprovado para a aplicação em amostras com baciloscopia negativa (Teo et al., 2012; Barreto et al., 2014).

A vantagem da utilização de uma técnica de amplificação de ácidos nucleicos na rotina laboratorial é a velocidade em que se obtém o resultado, possibilitando a rápida intervenção. Entretanto, por serem capazes de detectar o microrganismo não viável, essas técnicas não devem substituir a cultura e

² RNA ribossômico.

não são úteis para o monitoramento do tratamento, uma vez que o resultado não é quantitativo. No entanto, eles são úteis na distinção entre *M. tuberculosis* e MNT, tornando-se uma ferramenta importante em populações que possuam alta colonização/doença por MNT, como é o caso dos pacientes HIV positivos (Barreto et al., 2014).

O método *INNO-LiPA Rif TB* é específico para a RIF e identifica as mutações mais comuns na região central do gene *rpoB*³. Os métodos *Genotype MTBDR Assay plus* (Hain Lifescience) e *Real-Time PCR* diagnosticam resistência a INH e RIF, avaliando respectivamente, mutações tanto na região central do gene *rpoB*, quanto no códon 315 do gene *katG*⁴. O método *MTBDR-plus* vem sendo recomendado pela OMS por ser menos dispendioso e pela capacidade de analisar 40 amostras simultaneamente (Freitas et al., 2009).

Em 2009, o método *GenoType MTBDR Assay* (Hain Lifescience) tornou-se disponível para detectar a resistência às fluoroquinolonas, aminoglicosídeos, e etambutol na cultura isolada ou em baciloscopia positiva de amostras de escarro. Um comitê de especialistas da OMS, em 2010, revisaram os dados de avaliação do método para drogas de segunda – linha mas não conseguiu endossá-lo devido à falta de provas suficientes sobre a sua precisão. Quando utilizado em combinação com outro método, é uma saída possível para a rápida detecção de TBXR (Zumlla et al., 2012).

O *RLFP (Restriction Fragment Length Polymorphism)* é outra técnica aplicada e que utiliza como marcador o elemento de inserção *IS6110* presente

³ Região do gene de *M. tuberculosis* que codifica a subunidade beta da RNA polimerase. A mutação nessa região confere resistência, visto que inibe a transcrição.

⁴ Região do gene que codifica a enzima catalase-peroxidase, um dos mecanismos de resistência do *M. tuberculosis*.

apenas no complexo *M. tuberculosis*, variando o número de cópias entre 1 a 20 por genoma. É método de referencia para caracterização molecular de isolados *M. tuberculosis*, permite monitorar a transmissão, definir *clusters* de cepas em determinados grupamentos populacionais, diferenciar a reinfecção endógena da exógena, avaliar recidiva, identificar contaminação cruzada em laboratórios, estudar a evolução molecular das espécies e compreender melhor a patogênese da doença (Campos, 2006; Case et al., 2013).

Foi o primeiro método molecular a ser validado para aplicação em estudos epidemiológicos. A inserção IS6110 consiste em uma sequência de 1.355 pb contendo 28pb idênticos, em suas extremidades temos uma sequência invertida, exclusiva às espécies pertencentes ao complexo *M. tuberculosis* (Thierry et al., 1990).

Apesar de a técnica ter excelente poder discriminatório, quando aplicada em isolados com baixo número de cópias da inserção IS6110, essa capacidade discriminatória é reduzida, necessitando o uso de métodos de genotipagem complementares (Park et al., 2000).

A possibilidade de diferenciação dos isolados do complexo *M. tuberculosis* é ferramenta útil às investigações epidemiológicas, permitindo o entendimento dos fatores que influenciam a transmissão da doença. Assim, a literatura destaca que isolados do complexo *M. tuberculosis* com perfil genético único, são caracterizados como casos de reativação, por outro lado, aqueles com isolados que compartilham padrões indistinguíveis, são denominados “clusters” e representam casos decorrentes de infecção recente (Small et al., 1994).

Outro avanço no diagnóstico da TBMR foi possível com o método Xpert® MTB/RIF (Figura 4). Consiste numa metodologia simples que pode ser realizada por laboratórios de baixa complexidade técnica. É um teste de amplificação de ácidos nucleicos utilizado para detecção do complexo *M. tuberculosis* e para a triagem de TB resistente à RIF. O método consiste na purificação, concentração e amplificação de ácidos nucleicos por PCR em tempo real e na identificação de sequências de ácidos nucleicos no genoma *M. tuberculosis*, especificamente do gene *rpoB* (Zumlla et al., 2012; Günther, 2014).

FONTE: (adaptado) Cepheid, 2014.

Figura 4 – Equipamento e cartucho do sistema Xpert® MTB/RIF

A diferença deste para os demais testes de amplificação de ácidos nucleicos utilizados na detecção de TB é que a plataforma do dispositivo de teste integra e automatiza os três processos (preparação de amostras, amplificação e detecção), necessários para a PCR em tempo real. É atualmente único, pois utiliza um cartucho contendo todos os elementos necessários para a reação, incluindo reagentes liofilizados, tampões líquidos e

soluções de lavagem. Este pode fornecer resultados num laboratório local, em menos de 2 horas, sem necessitar de tratamento da amostra ou de recursos humanos especializados em biologia molecular (Ramsay et al., 2010; Zumlla et al., 2012; Bates et al., 2013).

Boehme et al. (2011) ao realizarem um estudo multicêntrico para analisar a viabilidade e acurácia diagnóstica do teste relatam, sensibilidade e especificidade de 90,3% (IC 95%: 88,4-92%), 99% (IC 95%: 98,5-99,3%) respectivamente.

O Brasil, no ano de 2013, após estudo piloto nos estados de Manaus e Rio de Janeiro, oficializou a implantação de uma Rede de Teste Rápido TB no SUS (RTR-TB), utilizando a metodologia Xpert® MTB/RIF. Essa rede é composta por 59 municípios considerados estratégicos, segundo critérios epidemiológicos (municípios com grande população prisional, população indígena e algumas cidades de fronteiras) e contribuíram com 56% do total de casos novos de TB notificados em 2011 (Costa, 2013).

No Brasil o diagnóstico da TBMR é feito através da realização de cultura para micobactérias com identificação da espécie e TS. O método preconizado pelo Ministério da Saúde e padrão ouro para avaliação da sensibilidade às drogas é o das proporções, em meio sólido Lowestein – Jensen (LJ), mas o uso do sistema o sistema MGIT960TM já foi validado no país (Brasil, 2008; Pottathil et al., 2011).

Com o intuito de melhorar a qualidade do diagnóstico da TB no Estado de São Paulo (SP), a partir de 2008 o Instituto Adolfo Lutz (IAL) e seus Centros de Laboratórios Regionais (CLR) passaram a utilizar a cultura e TS, pela razão

da resistência, em meio líquido do sistema MGIT960™, permitindo rapidez no isolamento e assim diminuindo o tempo para a realização do TS.

No Brasil, assim como nos países com escassos recursos financeiros, o TS é indicado a pacientes que apresentam algumas condições especiais. Em nosso país o PNCT recomenda a realização do teste ao paciente que apresentar, no mínimo, uma das seguintes condições: retratamento após falência bacteriológica⁵, recidiva da doença⁶, reinício de tratamento após abandono⁷, suspeita de resistência primária, contato de um caso de TB resistente e na vigilância epidemiológica (Brasil, 2008; WHO 2013b).

Os estados da Federação podem acrescentar outras condições, visando intervir de maneira eficaz no controle da doença. Assim, o Programa de Controle da Tuberculose (PCT) do Estado de São Paulo realiza o TS aos pacientes que apresentam as condições relatadas acima, e ainda, aos casos de coinfeção TB/HIV e para toda população considerada de maior risco de adoecimento como, profissionais de saúde, população em situação de rua e outras populações institucionalizadas (São Paulo, 2006).

1.4 A Tuberculose Multirresistente no Mundo

Os dados disponíveis de incidência global da multirresistência encontram-se subestimados, em consequência dos exames de cultura de escarro e o TS não serem efetuados rotineiramente nos países de elevado

⁵ Entende-se por falência, a persistência da positividade do escarro (++ ou +++) ao final do 4º ou 5º mês de tratamento.

⁶ Considera-se recidiva, o doente com TB em atividade que já se tratou anteriormente e recebeu alta por cura, desde que a data da cura e a data do diagnóstico de recidiva não ultrapassem cinco anos. Se exceder cinco anos, o caso é considerado como “caso novo” e o tratamento preconizado é o esquema inicial.

⁷ Considera-se caso de abandono, o doente que depois de iniciado o tratamento para TB, deixou de comparecer à unidade de saúde por mais de 30 dias consecutivos, após a data estipulada de seu retorno.

índice de pobreza, onde a TB apresenta características hiperendêmica. Apesar dessa limitação, a literatura apresenta a TBMR como um problema crescente e de magnitude em saúde pública.

Em face da relevância do problema, em 1994, foi iniciado sob a coordenação da OMS, em colaboração com a IUATLD, o Projeto Global de Vigilância da Resistência às Drogas Antituberculose. O objetivo de tal proposta foi mensurar a magnitude da TBMR e monitorar tendências (Cohn et al., 1997). Para tanto, usa como estratégias inquéritos nacionais periódicos e a aplicação rotineira de TS a todos os pacientes (Zignol et al., 2011).

Entre 1999 e 2002, a prevalência estimada de TBMR situava-se em torno de 1,7% dos casos de TB identificados em todo o globo, sendo, 1,1% entre os casos novos e 7% entre os casos que apresentavam tratamento prévio (Faustini e Perucci, 2006).

No ano de 2004, a incidência mundial de TBMR foi estimada em 420 mil casos. A China, a Índia e a Federação Russa são responsáveis por aproximadamente 62% desses casos (Zignol et al., 2006).

Dados do Projeto Global de Resistência às Drogas, relativos a 90 mil pacientes de 83 países e territórios, abrangendo o período entre 2002 e 2007, mostram um aumento de 65% nos casos de TBMR, com ampla variação na magnitude e tendência da resistência às drogas nas diferentes regiões. Os níveis mais elevados foram encontrados nos países da antiga União Soviética; algumas províncias da China; as regiões do Mediterrâneo Oriental e do sudeste da Ásia as quais apresentaram prevalência de resistência semelhante à média global. As taxas mais baixas foram encontradas nas Américas, Europa Ocidental, Europa Central e África (Wright et al., 2009).

Ainda nesse estudo estima-se que 500 mil casos de TBMR ocorreram em 2006, sendo 86% concentrado em 27 países e desses 50% estavam na Índia e China. Países das Américas, Europa Ocidental, Central e África reportaram as menores prevalências de TBMR.

Estimativas relativas a 2008, para todo o globo, apontam 440.000 casos de TBMR, entre primárias e adquiridas, e 150.000 mortes. Estima-se também que 3,6% dos casos novos de TB estariam associadas à *M. tuberculosis* multidroga resistentes (WHO/MDR, 2010). A TBMR tem sido motivo de crescente preocupação, pois torna mais complexo, prolongado e caro o tratamento, elevando o número de internações e de mortes por TB (Rosseti et al., 2002).

Dados recentes (2012) relativo a todo o globo sugerem que 3,6% dos casos de tuberculose recentemente diagnosticados e 20% de aqueles tratados anteriormente tinham TBMR. Os maiores números foram reportados na Europa Oriental e Ásia Central, onde em alguns países mais de 20% de novos casos de TB e mais do que 50% com tratamento anterior são TBMR (Figura 5) (WHO, 2013a).

No mesmo ano, 94 mil casos de TB foram elegíveis para o tratamento de TBMR, sendo 84 mil confirmados. Os casos confirmados representam 28% dos 300 mil casos estimados de TBMR entre pacientes de TB notificados em 2012, acima dos 20% em 2011, e 19% dos 450 mil casos incidentes estimados TBMR em do mundo em 2012. Grande parte do aumento entre 2011 e 2012 foi contabilizada pela Índia, África do Sul e Ucrânia (WHO, 2013a).

Nas Américas, em 2011, foram estimados de 6.000 casos de TBMR entre os casos notificados de TBP, sendo 2,1 % entre os casos novos e 11%

entre os casos de retratamento. Até o final de 2011, pelo menos um caso de TBXR foi relatado em 11 países das Américas, a saber: Argentina, Brasil, Canadá, Chile, Colômbia, República Dominicana Equador, México, Peru, Estados Unidos e Venezuela. Sete países (Peru, Brasil, México, Equador, Argentina, República Dominicana e Haiti) foram responsáveis por mais de 80% de todos os casos de TBMR estimados (WHO, 2013a)

FONTE: WHO, 2013a.

Figura 5 – Casos de TBMR notificados (número absoluto), 2011

Na América do Sul, estima-se que 66% dos casos detectados de TBMR concentram-se no Brasil e no Peru, a maior parte deles no Brasil (PAHO, 2013).

Estima-se que, entre 2009 e 2015, serão tratados aproximadamente 1,4 milhões de casos de TBMR ou de TBXR em todo o globo. O custo de diagnosticar e tratar esses casos foram estimados em \$16,9 bilhões de dólares

americanos, com custos anuais que oscilam de \$700 milhões em 2009 a \$4,4 bilhões de dólares americanos em 2015. Nesses países a proporção de casos de TBMR pode variar de 1% a 14%, ou mais, entre esses casos a TBXR pode ser superior a 21% (Donald et al., 2009).

1.5 A Tuberculose Multirresistente no Brasil, no Estado de São Paulo e no Município de Santos (SP)

No Brasil, a multirresistência é na maior parte dos casos, adquirida ou secundária, enquanto que nos países de menor prevalência de infectados e de doentes é majoritariamente primária (Melo et al. 2003). Em nosso país são escassos os dados referentes à resistência aos medicamentos antituberculose. Inquérito Nacional promovido pelo Ministério da Saúde (MS), realizado entre 1995 e 1996, verificou-se que a resistência a pelo menos uma droga foi de 10,6%, resistência primária e adquirida, a um ou mais quimioterápicos foi de 8,5% e 21%, respectivamente (Natal, 2002).

A literatura relata poucos estudos brasileiros de base populacional estimando a incidência da TBMR (Telles et al., 2005), mas dados disponíveis sugerem uma variação de 1% a 8% de TBMR entre o total de casos novos e de 3% a 13% entre pacientes com tratamento anterior de TB (Brito, 2010; Santos, 2010).

Em 1996, foi realizado no Brasil o I Inquérito Nacional de Resistência aos Fármacos Antituberculose, envolvendo 13 unidades de saúde, com a identificação de aproximadamente 6.000 cepas de *M. tuberculosis*, apresentando as taxas de prevalência de TBMR primária e adquirida de 1.1% e 7.9%, respectivamente (Micheletti et al., 2014).

Entre 1994 e 2006 foram notificados no país 2.616 casos novos de TBMR (Brasil, 2007), com maior concentração nos estados do Rio de Janeiro (39%) e São Paulo (19%). Dados parciais de 2007 registram 116 casos de TBMR notificados ao sistema de Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde (MS), sendo 8% a frequência de coinfeção pelo HIV (Dalcomo et al., 2007). Importante destacar que apenas em 2000 iniciou-se a notificação sistemática dos casos detectados por cultura e TS.

Dados preliminares do II Inquérito Nacional de Resistência aos fármacos anti-TB, iniciado em 2006, com 4.421 pacientes atendidos em 7 estados (Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Bahia, Distrito Federal, Santa Catarina, Minas Gerais e São Paulo) do Brasil, as taxas de TBMR primária e adquirida foram, respectivamente, de 1,4% (variação: 1,0-1,8%) e 7,5% (variação: 5,7-9,9%) (Dalcomo et al. 2007; Kritski, 2010).

Em 2010, foram relatados 607 casos de TBMR. Em 2001, esse número era de 334, representando um aumento anual de 8,1%, em média, o número de casos de TBMR no país entre 2001-2010. Aumento fortemente revelado entre 2004-2005 e 2009-2010, com 22,6% e 47,3% de aumento de um ano para outro, respectivamente. No último período é importante ressaltar que o PCT passou a priorizar a cultura e TS para todos os casos de retratamento e para as populações mais vulneráveis (Oliveira et al., 2013).

Estimativas da incidência de TB no Estado de São Paulo, relativas a 2011, situam-na em aproximadamente 39/100.000 habitantes-ano, um pouco acima da média nacional (38,0/100.000 habitantes/ano) (Brasil, 2011b), dez dos seus 647 municípios concentravam 53% dos casos novos, destacando-se entre os mais atingidos, os da Região Metropolitana da Baixada Santista, onde

Santos (SP) é o que apresenta situação mais preocupante, com taxas muito superiores à média estadual (São Paulo, 2006).

No município de Santos (SP), em 2011, foram notificados 309 casos novos de tuberculose, o que corresponde a uma taxa de incidência de 73 casos/100 mil habitantes-ano. No mesmo ano 79% dos casos novos evoluíram para cura e 10,7% abandonaram o tratamento, portanto, abaixo da meta recomendada pelo PNCTB, curar 85% dos casos novos e apresentar no máximo 5% de abandono (São Paulo, 2006; São Paulo, 2012).

Entre 2000 e 2004, segundo os resultados de um estudo no município de Santos, foram notificados 2.176 casos de TB pulmonar, portanto, uma taxa de incidência e de mortalidade anual média de TB pulmonar, entre maiores de 15 anos, de 127,9/100.000 habitantes/ano e 6,9/100.000 habitantes/ano, respectivamente (Coelho et al., 2009).

Do total de casos notificados, 23% deles apresentavam história prévia de TB, sendo que 71% deles abandonaram o tratamento anterior; a prevalência média de coinfeção TB/HIV, para o período, foi de 16%. Com referência aos desfechos do tratamento dos 2176 pacientes, 71% deles curaram-se, 12% abandonaram o tratamento, 3% morreram por TB e 3% por TB/HIV (Coelho et al., 2009).

Verificou-se também que cerca de 30% (671/2.176) apresentava um ou mais fatores considerados de risco para TBMR, porém somente um terço desse total foi submetido ao TS. Dos que apresentavam história de tratamento anterior, 26,7% eram resistentes a ao menos uma droga e 17,3% eram TBMR; entre os casos novos 25,6% eram resistentes a ao menos uma droga e 11,6% eram TBMDR. A incidência anual média de TBMR foi de 1,9/100.000

habitantes-ano. Os resultados não sugerem associação entre coinfeção TB/HIV (Coelho et al., 2012).

A elevada proporção de resistência primária sugere a circulação de cepas de *M. tuberculosis* resistentes na comunidade. Os resultados apontam a expressiva magnitude da TBMR em Santos, ainda que, esteja provavelmente subestimada, assim como o inadequado cumprimento dos critérios de triagem para o TS. Sugerindo a necessidade de rediscussão da estratégia adotada para a triagem da TBMR e da própria vigilância da TBMR no Brasil que se fundamenta em inquéritos nacionais periódicos.

A magnitude das taxas de morbi-mortalidade e o elevado risco de TB entre indivíduos em idade economicamente ativa apontam o caráter hiperendêmico da TBP no município de Santos (Ohmori et al., 2002, Borroto-Gutiérrez, 2000). A ponderável parcela dos casos de retratamento por abandono e de hospitalização durante o tratamento, além de contribuir para a manutenção de elevado risco de infecção, constitui condição amplamente favorável à ocorrência de TBMR (Telles et al., 2005).

Diante da característica hiperendêmica da TB no município de Santos e das condições favoráveis à ocorrência da TBMR, estimativas mais consistentes de sua magnitude e dos fatores de risco associados à TBMR são indispensáveis para a fundamentação de condutas clínicas e intervenções de saúde pública mais efetiva e eficiente.

2 OBJETIVOS

- Descrever as características sociodemográficas, as relativas à história pregressa e atual da TB, ao tratamento, às co-morbidades e às características dos serviços, dos pacientes com TB pulmonar, residentes no município de Santos que iniciaram tratamento ou retratamento no mesmo município, em 2011 e 2012.
- Descrever o perfil de sensibilidade aos fármacos antituberculose e estimar a incidência de resistência primária e adquirida a uma ou mais drogas, assim como da TBMR e TBXR na população de estudo.
- Analisar os resistentes a ao menos uma droga, segundo características individuais e as relativas ao desfecho do tratamento e aos serviços.
- Analisar o genótipo e a distribuição espacial das cepas resistentes a ao menos uma droga, por meio da técnica do *RFLP*, com a finalidade de identificar "clusters", e descrever as características sociodemográficas, as relativas à história pregressa e atual da TB, ao tratamento e às co-morbidades.

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Delineamento de estudo

Estudo descritivo de base populacional de uma corte de pacientes de TBP, residentes no município de Santos (SP) que iniciaram o tratamento ou o retratamento no período 01 de janeiro de 2011 a 31 de dezembro de 2012.

3.2 Caracterização da Área de Estudo

A área de estudo é o município de Santos, situado na Região Metropolitana da Baixada Santista (SP), com população estimada, em 2010, em 419.400 habitantes, o que representa 1,02% da população do Estado de São Paulo; geograficamente dividido em duas áreas, insular e continental. A primeira é constituída por 43 bairros e 15 morros, da qual faz parte a região portuária; a segunda, com características rurais é composta por 10 bairros, com território seis vezes maior que a área insular possuindo áreas em morro, inadequadamente ocupadas, com uma taxa de urbanização de 99,5% (São Paulo, 2010; Santos, 2013).

É o município mais populoso da região e o mais densamente povoado do Estado. Compondo a Região Metropolitana da Baixada Santista⁸, é o município mais rico da região, mas não exhibe bons indicadores sociais (riqueza, escolaridade e longevidade). A densidade populacional é de 1.494 hab. /km², que equivale a 14,94 hab/hectare (Brasil, 2010; São Paulo, 2010; Santos, 2013), o seu Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) é de 0,840, dos mais

⁸ A Região Metropolitana da Baixada Santista foi instituída a partir da Lei Complementar Estadual 815/96 de 19 de julho de 1996. Composta por 9 (nove) municípios do Estado de SP, totalizando 1.476.820 habitantes, sendo a 3ª região do Estado em população.

elevados do país, mas com áreas populosas onde vivem grupos populacionais em condições de pobreza. Segundo o Índice Paulista de Responsabilidade Social (IPRS) é o 6º do Estado em riqueza, 12º em escolaridade. O Índice Paulista de Vulnerabilidade Social (IPVS), em 2010, demonstrou que 83,6% da população do município está classificada como baixíssima, muito baixa e baixa vulnerabilidade (Grupos 1, 2 e 3), sendo 8,7%, 2,4% e 5,4%, de vulnerabilidade média, alta e muito alta, respectivamente (Grupo 4 a 7); a análise das condições de vida mostra que a renda domiciliar média era de R\$3.951,00, sendo que em 6,5% dos domicílios não ultrapassava meio salário mínimo per capita, 1,5% dos habitantes vivem em situação de extrema pobreza, equivalendo a 6.245 (São Paulo, 2010; Santos, 2013).

FONTE: São Paulo, 2010.

Figura 6 - Classificação Índice Paulista de Vulnerabilidade Social (IPVS). Município de Santos

O sistema público de saúde do município oferece boa cobertura de serviços, com 31 Unidades Básicas de Saúde, além de três ambulatórios de especialidade, sendo um deles exclusivo para o tratamento dos casos de TBMR, três prontos socorros, dois hospitais e um Centro de Referência em AIDS (Santos, 2011).

Na rotina de diagnóstico da doença, os casos de TB com diagnóstico clínico e/ou bacteriológico, através do exame de baciloscopia, realizado por serviço privado de saúde do município, são encaminhados à rede pública para acesso à medicação, início e acompanhamento do tratamento, quando este último for de acordo com o paciente. Conforme recomendação do PNCT, os casos de TB com fatores de risco para resistência às drogas devem ter amostras clínicas encaminhadas para exame de cultura e TS; estes exames são executados pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL) – CLR Santos e IAL Central, respectivamente.

3.3 População de referência

A população de referência para este estudo foi constituída por pacientes com TBP, residentes no município de Santos (SP), maiores de 15 anos, ambos os sexos, notificados ao sistema de vigilância estadual, e que iniciaram o tratamento ou o retratamento no período de 01 de janeiro de 2011 a 31 de dezembro de 2012.

3.4 Definições e Conceitos

3.4.1 Definição de casos de TB Pulmonar

Definiu-se como caso de TB pulmonar os indivíduos com 15 anos ou mais de idade, que apresentaram manifestações clínicas compatíveis, confirmadas por ao menos um dos seguintes critérios: baciloscopia, cultura com isolamento de *M. tuberculosis*, Raios-X com imagem sugestiva de cavidade pulmonar.

3.4.2 Definição de casos de TBMR e TBXR

Definiu-se como caso de TBMR os pacientes com TBP associados à cepas de *M. tuberculosis* resistentes a ao menos a INH e a RIF, por outro lado, define-se como caso de TBXR aqueles em que existe resistência a: INH, RIF, a qualquer fluoroquinolona e a, pelo menos, uma das seguintes drogas injetáveis de segunda linha: capreomicina (CA), canamicina (KA), amicacina (AK) (Matteelli et al., 2014).

3.4.3 Definição de Resistência Primária e Adquirida

Define-se como resistência primária ou inicial quando esta é observada no momento em que o paciente inicia o tratamento, isto é, na ausência de tratamento anterior, e resistência adquirida/secundária, quando houver certeza de um tratamento prévio (Brasil, 2011a; Zumla et al., 2012; Oliveira et al., 2013; Günther, 2014).

3.5 População de Estudo

Foram selecionados para o estudo os casos de TBP pertencentes a população de referência, notificados à vigilância da TB e incluídos aqueles cujo diagnóstico e/ou tratamento tenham sido efetuados na rede pública de saúde do município de Santos (SP). Selecionamos somente aqueles com diagnóstico confirmado por isolamento de *M. tuberculosis* e submetidos ao teste de sensibilidade (TS), independentemente de ser ou não o primeiro tratamento.

3.5.1 Critérios de Exclusão

Foram excluídos do estudo os pacientes: i) com outra forma clínica que não pulmonar; ii) infectados por cepas de MNT; iii) que apresentaram nos exames laboratoriais contaminação do material de cultura ou problemas técnicos que inviabilizaram a realização do TS.

3.6 Fontes de Dados

As fontes de dados utilizadas foram as seguintes: i) Laboratório Central (LC) e CLR Santos, ambos do IAL, para obtenção de dados laboratoriais; ii) Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de SP / Divisão de Tuberculose/ Programa Estadual de Controle da Tuberculose, para obtenção de dados clínico epidemiológico (Sistema de Informação TBWEB); iii) Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), como fonte de dados demográficos; iv) Secretaria de Planejamento do município, dados populacionais e mapas da cidade.

3.7 Variáveis de estudo

As variáveis de interesse para o estudo foram: as características sociodemográficas (sexo, idade, escolaridade, área de residência), história atual e pregressa de TB (TB no passado, tipo de alta da TB anterior e o tratamento de TB), aspectos relativos ao diagnóstico, aspectos relativos ao tratamento (tratamento supervisionado, internação hospitalar por tuberculose, adesão, mudança de esquema e esquema utilizado, e encerramento do tratamento atual), co-morbididades (HIV/AIDS, alcoolismo, diabetes e doença mental), aspectos relativos ao agente (resistência às drogas e perfil genético) e ao serviço (tipo de tratamento e investigação de contatos).

3.8 Procedimentos laboratoriais

Os exames laboratoriais de baciloscopia e cultura foram realizados pelo IAL - CLR Santos e os testes de identificação, de suscetibilidade às drogas e análise molecular pelo IAL - LC, conforme especificado a seguir.

3.8.1 Baciloscopia

Exame de baciloscopia de escarro para diagnóstico etiológico e controle de tratamento de TB foi realizado por meio da coloração de Ziehl-Nielsen (ZN), após preparação do esfregaço a partir da amostra biológica ou do sedimento da cultura (Figura 7). Em lâminas positivas foi realizada a contagem bacilar semi-quantitativa conforme o índice baciloscópico recomendado pelo MS (Brasil, 2008).

3.8.2 Cultura

Após digestão e descontaminação pelo Método de Petroff modificado (Figura 3), os espécimes clínicos foram semeados em meio de cultura do sistema automatizado MGIT960TM que contém 7ml do caldo base Middlebrook 7H9 modificado, contendo 800ul de solução de enriquecimento e antibióticos.

FONTE: Adaptado (Brasil, 2008).

Figura 7 - Procedimento de descontaminação e digestão da amostra – Método de Petroff

Os meios são colocados no módulo de Incubação do sistema, que consiste numa estufa bacteriológica a 37°C, com monitoramento a cada 60 minutos, por até 42 dias. O sistema usa a tecnologia de fluorescência. Cada frasco de meio de cultura contém no seu fundo arredondado um composto

fluorescente embebido em silicone. O composto reage com a concentração de oxigênio no meio de cultura, medindo o consumo de O₂ pela micobactéria no meio de cultura.

O nível de fluorescência corresponde à quantidade de oxigênio consumido pelo microrganismo, quando certo nível de fluorescência é atingido, o instrumento indica que o frasco é positivo. As culturas positivas são confirmadas quanto à presença de BAAR, pela observação de esfregaços corados pelo método ZN. As culturas do sistema automatizado onde se detectou a presença de microrganismos contaminantes foram novamente descontaminadas pelo método de Petroff e semeadas em novo meio de cultura para tentar a recuperação da amostra (Brasil, 2008; BD⁹, 2006).

3.8.3 Identificação

Primeiramente foi realizada a identificação presuntiva dos isolados, pela análise microscópica em lâmina a partir de uma amostra da cultura líquida onde se avalia: a pureza da cultura, presença de BAAR e formação de corda (FC). A presença da FC é um teste presuntivo utilizado para separação das espécies do complexo *M. tuberculosis* das MNT (Coelho, 2007; Brasil, 2008; Brasil, 2011). Em seguida os isolados são encaminhados ao IAL - LC para identificação da espécie de acordo com as técnicas preconizadas pelo MS; pelo método PRA-*hsp65* e algumas provas de identificação fenotípica (Brasil, 2008; Chimara et al., 2008).

⁹ Becton Dickinson.

3.8.4 Teste de Sensibilidade às Drogas

O TS à INH, RIF, SM e EM foi realizado em sistema automatizado MGIT960™. São consideradas resistentes a essas drogas, as cepas de *M. tuberculosis* que apresentam crescimento em tubos contendo drogas em concentrações que, em relação às concentrações de drogas dos tubos controle, resulta em razões iguais ou maiores que 4:1. Considera-se resistente à pirazinamida (PZA) as cepas que apresentam crescimento em tubos com essa droga na concentração de 200 ug/ml (PAHO, 1986; Giampaglia et al., 2007; Brasil, 2008).

Toda cepa com resistência a ao menos INH e RIF foram encaminhadas para TS de drogas de segunda linha (Amicacina, Capreomicina, Kanamicina, Ofloxacina). As soluções estoques das drogas a serem testadas são preparadas nas seguintes concentrações: Amicacina (AK - 8,4 mg/ml), Ofloxacina (OF - 16,8 mg/ml), Capreomicina (CA - 21 mg/ml) e Kanamicina (KA - 21,0 mg/ml), e são aliquotadas em crio tubos e armazenadas a -20C.

A partir da solução estoque, obtemos as concentrações finais desejadas para cada droga que são: AK -1 µg/ml, CA - 2,5 µg/ml, KA -2,5 µg/ml e OF - 2 µg/ml, para a realização dos testes de concentração inibitória mínima (CIM) e de susceptibilidade pelo sistema automatizado MGIT960. Para cada teste são utilizados 6 tubos de MGIT, 1 tubo controle, 4 tubos com drogas (AK, OF, CA e KA) e 1 tubo contendo ácido p- nitrobenzóico (PNB). O ácido p-nitrobenzóico na concentração de 500 µg/ml é um agente inibidor do crescimento para as bactérias pertencentes ao complexo *M. tuberculosis*, diferenciando este das outras MNT.

Foi realizada uma diluição do crescimento bacteriano de 1:5 a partir da escala 1 de MacFarland para a inoculação de 0,5 mL nos tubos contendo drogas e PNB, e uma diluição de 1:100 a partir da diluição de 1:5 para a inoculação de 0,5 mL no meio controle sem drogas. A montagem dos testes nas estantes para inoculação e incubação seguiu a seguinte sequência: Controle, AK, OF, CA, KA e PNB, e colocados no módulo de incubação do sistema MGIT 960 na ordem já descrita. Os testes foram liberados entre 4 a 12 dias após a incubação.

Leitura do teste

Este método é um teste automatizado, qualitativo, com 4 a 13 dias de duração e baseia-se na comparação de crescimento no tubo controle (isento de fármaco) com os tubos contendo os fármacos. Ocorre o monitoramento constante dos tubos pelo instrumento quanto ao aumento de fluorescência, a mesma se dá a partir do consumo de oxigênio pelo microrganismo presente no tubo, o qual aciona o composto fluorescente. A partir da comparação da fluorescência entre o tubo controle e o contendo droga, o equipamento interpreta automaticamente os resultados emitindo um relatório, com o índice de crescimento (IC), demonstrando susceptibilidade ou resistência das cepas.

3.8.5 Caracterização molecular das cepas de *M. tuberculosis* por RFLP-IS6110

O método de RFLP-IS6110 foi realizado em conformidade ao protocolo padronizado e descrito por van Embden et al. (1993). Após crescimento

bacteriano em meio de LJ, foram realizadas a extração e purificação do DNA¹⁰. Aproximadamente 4 µg de DNA por amostra foram digeridas com a enzima Pvu II em tampão específico, por 4h a 37°C. As amostras digeridas foram submetidas à eletroforese, em gel de agarose 1% em tampão tris-ácido acético-EDTA (TAE), por 18h. Os fragmentos separados por eletroforese, contidos no gel de agarose, foram despurinados, desnaturados e neutralizados previamente à transferência para uma membrana de náilon carregada positivamente, utilizando o aparelho Vacu-Gene (marca: Techne).

Após fixação do DNA na membrana foi submetida à hibridação com sonda, de 245 pares de base da IS6110, marcada com digoxigenina. Em seguida, a membrana foi lavada com tampão de citrato salino de sódio (SSC) contendo SDS e finalmente em tampão tris-ácido acético. A membrana foi incubada em tampão contendo anticorpo anti-digoxigenina marcada com fosfatase alcalina. A revelação foi feita com substrato NBT contendo X fosfatase, na presença de MgCl₂ e ao abrigo da luz. A reação foi interrompida após revelação das bandas correspondentes aos fragmentos, lavando-se com tampão Tris-EDTA pH 8,0.

3.8.6 Análise do perfil genético das cepas de *M. tuberculosis* pelo método RFLP-IS6110

O perfil genético de cada cepa de *M. tuberculosis* foi analisado com o auxílio do programa Bionumerics versão 5.0 (Applied Maths – Bélgica). Este programa fornece uma análise dos *clusters* utilizando a análise de agrupamento pelo método de médias aritméticas não ponderadas (UPGMA)

¹⁰ Ácido desoxirribonucleico.

baseado no coeficiente de *Dice* para o pareamento, com uma tolerância de 1,0% e otimização de 1,5%. Para comparação e construção do dendrograma foram utilizados UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) e o Coeficiente *Dice*, com margem de 1,5% de tolerância.

O número de cópias da IS6110 foi determinado de acordo com o número de fragmentos de DNA hibridizados com a respectiva sonda e visualizados em forma de banda compacta na membrana de náilon. Para cada banda visualizada, foi considerada uma cópia da IS6110.

A comparação dos perfis genéticos, designados aleatoriamente por números e letras seguidos da abreviação “SP”, resultou na classificação das cepas em pertencentes ou não a um grupo genético. As cepas com diferença de no mínimo uma banda de DNA foram consideradas de mesmo perfil genético e classificadas como pertencentes a um determinado grupo - *cluster*.

3.9 Criação e Manejo do Banco de dados

A base de dados utilizada nesse estudo foi formada com as informações clínico-epidemiológicas do PCT do Estado de São Paulo, obtida em formato Excel, junto ao Sistema de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo, base de dados TBWEB. Nessa base de dados foram selecionados os pacientes que cumprem a definição de caso e os critérios de inclusão do projeto. Em seguida esses dados foram confrontados com a base de dados laboratoriais do IAL, em formato Excel, efetuando-se as correções e complementações necessárias.

Finalmente, foram eliminadas as duplicidades por pareamento do nome, data de nascimento, endereço do paciente e nome da mãe; em seguida,

efetuamos a análise de consistência e na sequência, a análise dos resultados com o *Software “Statistical Package for Social Sciences”* (SPSS) versão 20.

3.10 Análise dos dados

Os pacientes que iniciaram o tratamento por mais de uma vez durante o período de estudo, seja por recidiva, abandono ou falência, foram contabilizados uma única vez, porém, descreveremos todos os eventos de interesse ocorridos, naqueles que se mostraram resistentes a ao menos uma droga no TS.

Inicialmente foi realizada uma análise descritiva das principais características de interesse dos casos selecionado. Para as análises comparativas entre proporções foram usados os testes qui-quadrado de Pearson e o Exato de Fisher e para variáveis contínuas o de Kruskal – Wallis.

Em seguida, foi descrita a evolução dos casos resistentes a ao menos uma droga e apresentado um esquema no formato de um diagrama de Lexis. Para a análise das características dos serviços de saúde, utilizamos como *proxy* de qualidade do programa a cobertura do tratamento supervisionado, a proporção de contatos de pacientes que foram investigados, as taxas de cura e de abandono.

A prevalência de casos com resistência primária foi estimada dividindo-se o número de pacientes com cepas resistentes entre os novos casos pelo número total de casos novos submetidos ao TS. Para a mesma estimativa relativa a resistência adquirida tomamos como numerador os pacientes com cepas resistentes entre os casos tratados anteriormente e como denominador o total de casos com tratamento anterior submetido ao TS.

A estimativa da incidência de TBMR primária e adquirida será estimada tomando-se como numerador os casos novos de TBMR e para o denominador a população com 15 anos ou mais do município de Santos no ponto médio do período. A proporção de TBXR foi calculada tomando-se como numerador os pacientes com TBXR e denominador os casos TBMR.

A descrição da distribuição espacial da TB resistentes e dos *clusters* foi possível com o uso do *software* Google Earth™. A inserção dos casos no mapa do município, dividido segundo o índice de vulnerabilidade social, foi possível a partir da informação de endereço constante na base de dados epidemiológicos - TBWEB.

3.11 Limitações do Estudo

Entre as limitações do estudo devemos salientar: i) o preenchimento incompleto ou incorreto da ficha de notificação; ii) subnotificação e casos de TB; iii) elevada proporção de cultura não realizada ou negativas em virtude, possivelmente, do escarro ter sido colhido após o início do tratamento ;iv) qualidade da amostra, método de descontaminação, riqueza do caldo MGIT e a natureza não – seletiva do indicador MGIT são fatores que podem inferir nos resultados.

3.12 Considerações Éticas da pesquisa

A pesquisa observou as recomendações da Resolução nº 196 de 10/10/96 - Conselho Nacional de Saúde para Pesquisa Científica em Seres Humanos. O estudo foi realizado com fundamento em análise de dados secundários, referentes às informações de rotina da vigilância da TB incluindo

dados clínico-epidemiológicos e de laboratório, nas fontes já citadas.

Os autores assumiram o compromisso de garantir a privacidade das informações e o anonimato dos sujeitos, utilizando-se os dados assim obtidos exclusivamente para os propósitos desta pesquisa (Anexo IV).

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética do Instituto Adolfo Lutz (nº0070/2010) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina (nº134/11), em 28/01/2011 e 03/05/2011, respectivamente (Anexo A, B e C).

4 RESULTADOS

No período de estudo, segundo dados da vigilância, foram notificados 768 casos de TB. Desse total, 19 (2,5%) estavam associados à MNT, 127 (16,5%) eram casos de TB extra-pulmonar, 27 (3,5%) eram menores de 15 anos, 15 (1,9%) tiveram mudança diagnóstica e 10 (1,3%) não residiam em Santos. Dos 570 casos de TBP, 109 (19,1%) foram diagnosticados em serviços privados e, portanto, excluídos do estudo. Dos 461 atendidos pela rede pública, a cultura foi realizada em 90% (415/461) dos casos. Desses, 64,6% (268/415) apresentaram cultura positiva e 263/268 foram submetidos ao TS, sendo selecionados para o estudo. Das 147 culturas negativas, em 83,7% (123/147) as amostras foram examinadas já no curso do tratamento, o que possivelmente explica o fato de serem negativas (Figura 8).

TB: Tuberculose, SP: São Paulo, TBP: Tuberculose Pulmonar, TS: Teste de Sensibilidade, BK: Baciloscopia, MNT: *Micobactéria Não Tuberculosa*, TBMR: Tuberculose Multiresistente, TDXR: Tuberculose Extensivamente Resistente.

Figura 8 – Representação esquemática da seleção do grupo estudado. Município de Santos (SP), Brasil. 2011-2012

A taxa de incidência anual média de TBP entre as pessoas > 15 anos de idade na cidade de Santos, no período de interesse foi de 67,4 / 100.000 habitantes-ano, com prevalência de 81,6 / 100.000 habitantes. As taxas médias de incidência anuais por região de residência mostraram uma distribuição desigual, variando 34,7 – 115,8 / 100.000 habitantes-ano na área da Orla Marítima e Zona Noroeste do município, respectivamente. A taxa média anual de incidência na Área Continental, que tem características rurais, foi

42,1/100.000 habitantes, em comparação com 65,3 /100.000 habitantes na área insular, considerada a Área urbana (Figura 9).

Figura 9 – Taxa média anual de incidência de TBP na população de 15 anos ou mais, segundo área geográfica e região de residência, por 100.000 habitantes/ano. Município de Santos (SP), Brasil. 2011-2012

Comparando os 263 pacientes com TBP estudados com os 307 casos de TBP não incluídos no estudo, verificamos diferenças em relação a algumas variáveis (Tabela 1).

Os não incluídos no estudo eram mais velhos (mediana da idade = 40 anos versus 38 anos; $p=0,053$), apresentavam maior escolaridades (17,8% com mais de 12 anos de estudo versus 9,4; $p=0,041$), maior taxa de cura (80,6% versus 71,7%; $p=0,011$), menor proporção de casos com TB no

passado (13,7% versus 21,7%; $p=0,0012$), porém sem diferenças para co-infecção TB/HIV (18,5% versus 18,2%; $p=0,942$). A coinfeção HIV/TB foi investigada em 81,4% (214/263) da população estudada versus 77,5% (238/307) da população não estudada ($p=0,259$).

Dos 263 casos de TBP estudados, 68,4% (180/263) eram do sexo masculino, a mediana da idade foi de 38 anos, 8,7% (23/263) eram portadores de diabetes. Para os pacientes que dispunham da informação, 48,9% (88/180) possuíam menos que sete anos de estudo, 18,2% (39/214) eram HIV positivos, 47,3% (123/260) foram submetidos a tratamento supervisionado, no entanto, essa última proporção variou conforme o *status* do paciente no início do tratamento, tendo sido de 50,2%, 37,0% e 37,0% ($p=0,358$), respectivamente, para casos novos, retratamento pós-cura e retratamento por abandono. Por sua vez, 66,7% (2/3) dos pacientes que apresentaram falência no tratamento anterior foram submetidos ao tratamento auto - administrado (Tabela 2).

Dentre os casos selecionados, 21,7% (57/263) apresentavam história pregressa da doença; 20,4% (42/206) dos casos novos apresentavam ao menos um fator de risco para TBMR, destacando-se entre estes casos 10,7% (22/206) de infecção HIV/TB.

Tabela 1 - Características dos casos de TBP selecionados e não selecionados para o estudo, segundo caracteres sociodemográficos, história atual e pregressa da doença e desfechos. Município de Santos (SP), Brasil, 2011-2012

Características	Casos TBP selecionados		Total n=570 N (%)	Valor de p
	Sim	Não		
	n= 263 N (%)	n= 307 N (%)		
Sexo				0,320
Feminino	83 (31,6)	109 (35,5)	192 (33,7)	
Masculino	180 (68,4)	198 (64,5)	378 (66,3)	
Idade				0,048
Mediana idade (em anos)	38 anos	40 anos	40 anos	
15 a 29 anos	79 (30,0)	91 (29,7)	170 (29,9)	
40 a 49 anos	120 (45,6)	115 (37,3)	235 (41,1)	
50 anos ou +	64 (24,3)	101 (33,0)	165 (29,0)	
Escolaridade				0,041
< 7 anos	88 (48,9)	84 (40,4)	172 (44,3)	
7 - 11 anos	75 (41,7)	87 (44,8)	162 (41,8)	
> 12 anos ou mais	17 (9,4)	37 (17,8)	54 (13,9)	
Infecção p/HIV				0,942
Não	175 (81,8)	194 (81,5)	369 (81,6)	
Sim	39 (18,2)	44 (18,5)	83 (18,4)	
Diabetes				0,584
Não	240 (91,3)	284 (92,5)	524 (91,9)	
Sim	23 (8,7)	23 (7,5)	46 (8,1)	
Tipo Tratamento Atual*				0,451
Auto administrado	137 (54,7)	149 (49,5)	286 (51,0)	
Supervisionado	123 (47,3)	152 (50,5)	275 (49,0)	
TB no passado				0,012
Não	206 (78,3)	265 (86,3)	471 (82,6)	
Sim	57 (22,7)	42 (13,7)	99 (17,4)	
Desfecho anterior				0,054
Cura	27 (47,3)	29 (69,0)	56(56,6)	
Abandono	27 (47,3)	13 (31,0)	40 (40,4)	
Falência	3 (5,3)	-	3 (3,0)	
Internação**				0,300
Não	214 (81,4)	239 (77,9)	453(79,5)	
Sim	49 (18,6)	68 (22,1)	117 (20,5)	
Desfecho Tratamento atual*				0,002
Cura	182 (71,7)	241 (80,6)	423 (76,5)	
Abandono	55 (21,7)	37 (12,4)	92 (16,6)	
Óbito TB	7 (2,8)	8 (2,7)	15 (2,7)	
Óbito TB/HIV	5 (2,0)	13 (4,3)	18 (3,3)	
Falência	5 (2,0)	-	5 (0,9)	

TBP: Tuberculose Pulmonar, HIV: Vírus Imunodeficiência Humana, TB: Tuberculose, RHZE: Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida, Etambutol (dose fixa combinada).

*Quando a soma das categorias de cada variável for menor que o número de casos estudados, a diferença decorre da ausência de informação.

** Internação no tratamento atual.

Tabela 2 - Características da TBP segundo sociodemográficas, comorbidades, relativas a sensibilidade a drogas e esquema terapêutico. Município de Santos (SP), Brasil, 2011-2012

Características	Caso Novo (n=206) N (%)	Retratamento pós-cura (n=27) N (%)	Retratamento p/Falência (n=03) N (%)	Retratamento Abandono (n=27) N (%)	Total (n=263) N (%)	Valor de <i>p</i>
Sexo						0,201
Feminino	63 (30,6)	13 (48,1)	1 (33,3)	6 (22,2)	83 (31,6)	
Masculino	143 (69,4)	14 (51,9)	2 (66,7)	21 (77,8)	180 (68,4)	
Idade						0,215
Mediana em anos	38,0	43,0	46,5	35,0	38,0	
15 a 29 anos	69 (33,5)	3 (11,1)	-	7 (25,9)	79 (30,0)	
30 a 49 anos	88 (42,7)	15 (55,6)	2 (66,7)	15 (55,6)	120 (45,6)	
50 anos ou +	49 (23,8)	9 (33,3)	1 (33,3)	5 (18,5)	64 (24,3)	
Escolaridade*						0,205
< 7 anos	64 (45,7)	14 (73,7)	1 (33,3)	9 (50,0)	88 (48,9)	
7 a 11 anos	60 (42,9)	4 (21,0)	2 (66,7)	9 (50,0)	75 (41,7)	
> 12 anos	16 (11,4)	1 (5,3)	-	-	17 (9,4)	
Infecção p/HIV*						0,002
Não	144 (86,7)	15 (60,0)	3 (100,0)	13 (65,0)	175 (81,8)	
Sim	22 (13,3)	10 (40,0)	-	7 (35,0)	39 (18,2)	
Diabetes						0,002
Não	188 (91,3)	24 (88,9)	1 (33,3)	27 (100,0)	240 (91,3)	
Sim	18 (8,8)	3 (11,1)	2 (66,7)	-	23 (8,7)	
Alcoolismo						0,377
Não	181 (87,9)	22 (81,5)	3 (100,0)	21 (77,8)	227 (86,3)	
Sim	25 (12,2)	5 (18,5)	-	6 (22,2)	36 (13,7)	
Resistência a drogas						<0,001
Sensível	191 (92,7)	21 (77,8)	-	23 (85,2)	235 (89,4)	
Monoresistência	9 (4,4)	4 (14,8)	-	3 (11,1)	16 (6,1)	
TBMR	3 (1,5)	1 (3,7)	1 (33,3)	-	5 (1,9)	
TBXR	1 (0,5)	-	2 (66,7)	1 (3,7)	4 (1,5)	
Outros padrões	2 (1,0)	1 (3,4)	-	-	3 (1,1)	
Esquema de Tratamento						<0,001
RHZ	3 (1,5)	1 (3,7)	-	-	4 (1,5)	
RHZE	196 (95,1)	22 (81,5)	-	26 (96,3)	244 (92,8)	
Outro	7 (3,4)	4 (14,8)	3 (100,0)	1 (3,7)	15 (5,7)	
Tipo de Tratamento*						0,358
Auto administrado	101 (49,8)	17 (63,0)	2 (66,7)	17 (63,0)	137 (52,7)	
Supervisionado	102 (50,2)	10 (37,0)	1 (33,3)	10 (37,0)	123 (47,3)	
Internações*						<0,001
Não	180 (87,4)	18 (66,7)	2 (66,7)	14 (51,9)	214 (81,4)	
Sim	26 (12,6)	9 (33,3)	1 (33,3)	13 (48,1)	49 (18,6)	
Desfecho de tratamento*						0,001
Cura	148 (73,6)	18 (72,0)	1 (33,3)	15 (60,0)	182 (71,7)	
Abandono	42 (20,9)	5 (20,0)	-	8 (32,0)	55 (21,7)	
Óbito TB	5 (2,5)	-	1 (33,3)	1 (4,0)	7 (2,8)	
Óbito não TB	3 (1,5)	1 (4,0)	-	1 (4,0)	5 (2,0)	
Falência	3 (1,5)	1 (4,0)	1 (33,3)	-	5 (2,0)	

TBP: Tuberculose Pulmonar. MR: Multidroga Resistente. XR: Extensivamente Resistente. RHZ: Esquema 1 (2RHZ / 4RH) - R (Rifampicina) - H (Isoniazida) - Z (Pirazinamida) - E (Etambutol). RHZE: Esquema Básico EB - 2RHZE/4RH. HIV: Vírus Imunodeficiência Humana.

*Quando a soma das categorias de cada variável for menor que o número de casos estudados, a diferença decorre da ausência de informação.

Dos 617 contatos identificados entre os 263 pacientes incluídos no estudo, verificamos que 14,7% (91/617) deles foram examinados e entre os examinados verificou-se que 47,2% (43/91) eram doentes. Entre os 57 casos de retratamento foram identificados 95 contatos, dos quais 23,2% (22/95) foram examinados e 41,0% (9/22) apresentavam TB (Tabela 2).

Dos 263 pacientes estudados, 18,6% (49/263) foram hospitalizados durante o tratamento, perfazendo 7.127 dias de internação com uma média de 145,4 dias por paciente, com uma letalidade de 14,3%. Para os casos em que dispúnhamos de informação sobre o motivo da internação, em 71,2% (28/39) deles a causa da internação foi social. Entre os casos TBMR e TBXR que foram internados não tivemos casos de óbito por TB.

Com referência aos desfechos, 71,7% (182/254) dos pacientes estudados evoluíram para cura, 21,7% (55/254) abandonaram o tratamento e 2,0% (5/254) apresentaram falência de tratamento, no entanto, essa proporção varia conforme o *status* do paciente no início do tratamento. Entre os casos novos 73,6% (148/201) curaram-se, declinando essa taxa para 72,0% (18/25) e 60,0% (15/25) ($P = 0,4308$) entre os submetidos, respectivamente, a retratamento pós cura e pós-abandono e 33,3% (1/3) entre os que apresentaram falência (Tabela 2).

Dos 263 pacientes cujas cepas de *M. tuberculosis* foram submetidas ao TS, 28 (10,6%) casos mostraram-se resistentes a ao menos uma droga (Figura 10). A resistência à INH foi encontrada em 8,4% (22/263) e à RIF 3,8% (10/263), 3,4% (9/263) eram TBMR, sendo que entre os últimos 4 eram TBXR (Tabela 3).

TB: Tuberculose, TBP: Tuberculose Pulmonar, TS: Teste de Sensibilidade, TBMR: Tuberculose Multiresistente, TBXR: Tuberculose Extensivamente Resistente, INH: Isoniazida, SM: estreptomicina.

Figura 10 – Representação esquemática do resultado dos testes de sensibilidade. Município de Santos (SP), Brasil. 2011-2012

Entre os casos novos 92,7% (191/206) foram sensíveis a todas as drogas e 7,3% (15/206) resistentes ao menos a uma droga, dentre estes, 5,3% (11/206) eram resistentes a INH, 1,9% (4/206) a RIF e 1,9% (4/206) eram TBMR, sendo que um dos quatro TBMR era TBXR (Tabela 3).

Entre os pacientes com tratamento prévio, 77,2% (44/57) eram sensíveis a todas as drogas, 22,8% (13/57) resistentes ao menos a uma droga, entre as quais, 19,3% (11/57) eram resistentes a INH e 10,5% (6/57) resistentes a RIF, 8,8% (5/57) eram TBMR dos quais três eram TBXR (Tabela 3).

A Incidência média anual de TBMR, no período de estudo, em indivíduos > 15 anos, foi de 0,57 /100.000 habitantes-ano.

Tabela 3 - Resistência a drogas de primeira e segunda linha entre *M. tuberculosis* isolados de casos de TBP. Município de Santos (SP), Brasil, 2011-2012

Sensibilidade a drogas	Resistência			
	Total	Primária	Adquirida	Resistência
	n=263 N (%)	n=206 N (%)	n=57 N1 (%)	Adquirida/ Primária N1/N
<i>Sensível a todas as drogas</i>	235 (89,3)	191 (92,7%)	44 (77,2%)	
Qualquer resistência	28 (10,6)	15 (7,3)	13 (22,8)	3,1
INH	22 (8,4)	11 (5,3)	11 (19,3)	3,6
SM	10 (3,8)	7 (3,4)	3 (5,3)	1,6
RIF	10 (3,8)	4 (1,9)	6 (10,5)	5,5
EM	05 (1,9)	2 (1,0)	3 (5,3)	5,3
PZA	03 (1,1)	-	3 (5,3)	
Monoresistência	16 (6,1)	9 (4,4)	7 (12,2)	2,7
INH	10 (3,8)	5 (2,4)	5 (8,8)	3,6
RIF	01 (0,4)	-	1(1,7)	
SM	03 (1,1)	3 (1,5)	-	
EM	02 (0,8)	1 (0,5)	1(1,7)	3,4
TBMR	05 (1,9)	3 (1,5)	2 (3,5)	2,3
INH, RIF	03 (1,1)	2 (1,0)	1(1,7)	
INH, RIF, SM, EM	01 (0,4)	1(0,5)	-	
INH, RIF, SM, EM, PZA	01 (0,4)	-	1 (1,7)	
TBXR	04 (1,5)	1 (0,5)	3 (5,1)	10,2
INH, RIF, SM, AM, CAP, KAN, OF	01 (0,4)	1(0,5)	-	
INH, RIF, AM, CAP, KAN, OF	01 (0,4)	-	1(1,7)	
INH, RIF, SM, EM, PZA, AM, CAP, KAN, OF	01 (0,4)	-	1(1,7)	
INH, RIF, PZA, AM, CAP, KAN, OF	01 (0,4)	-	1(1,7)	
Outros padrões	03 (1,1)	2 (1,0)	1 (1,7)	1,7
INH; SM	03 (1,1)	2 (1,0)	1 (1,7)	

TBP: Tuberculose Pulmonar, INH: Isoniazida, RIF: Rifampicina, SM: Estreptomicina, EM: Etambutol, PZA: Pirazinamida, AM: Amicacina, CAP: Capreomicina, KAN: Canamicina, OF: Ofloxacina. TBMR: Tuberculose Multidroga resistente. TBXR: Tuberculose Extensivamente resistente.

Ao compararmos as características dos 28 casos resistentes à ao menos uma droga com as dos 235 casos sensíveis a todas as drogas (Tabela 4), verificamos entre os primeiros, maior proporção de: diabéticos (17,9% versus 7,7%; $p=0,024$), de história prévia de TB (46,4% versus 18,7%; $p=0,006$) e menor taxa de cura (59,7% versus 73,1%; $p=0,038$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Características dos pacientes com TBP, com resistência a ao menos uma droga. Município de Santos (SP), Brasil, 2011-2012

Características	Sensíveis (n=235) N(%)	Resistentes (n=28)				Sub-total (n=28) N(%)	Total (n=263) N(%)
		Monoresistente (n=16) N(%)	TBMR (n=05) N(%)	TBXR (n=04) N(%)	Outro padrão (n=03) N(%)		
Sexo							
Masculino	181 (68,5)	12 (75,0)	4 (80,0)	2 (50,0)	1 (33,3)	19 (67,9)	83 (31,6)
Feminino	74 (31,5)	4 (25,0)	1 (20,0)	2 (50,0)	2 (66,7)	9 (32,1)	180 (68,4)
Idade							
<i>Mediana em anos</i>	38	40,5	43,0	42,5	42,0	42,5	38
15 a 29 anos	74 (31,5)	4 (25,0)	1 (20,0)	-	-	5 (17,9)	79 (30,0)
30 a 49 anos	107 (45,5)	5 (31,3)	2 (40,0)	4 (100,0)	2 (66,7)	13 (46,4)	120 (45,6)
50 anos ou +	54 (23,0)	7 (43,8)	2 (40,0)	-	1 (33,3)	10 (35,7)	64 (24,30)
Escolaridade							
< 7 anos	76 (48,7)	7 (58,3)	2 (40,0)	-	3 (100,0)	12 (50,0)	88 (48,9)
7 a 11 anos	66 (42,3)	4 (33,3)	1 (20,0)	4 (100,0)	-	9 (37,5)	75 (41,7)
> 12 anos	14 (9,0)	1 (8,3)	2 (40,0)	-	-	3 (12,5)	17 (9,4)
Alcoolismo							
Não	202 (86,0)	14 (87,5)	5 (100,0)	4 (100,0)	3 (100,0)	26 (92,9)	227 (86,3)
Sim	33 (14,0)	2 (12,5)	-	-	-	2 (7,1)	36 (13,7)
Diabetes							
Não	217 (92,3)	15 (93,8)	4 (80,0)	2 (50,0)	2 (66,7)	23 (82,1)	240 (91,3)
Sim	18 (7,7)	1 (6,3)	1 (20,0)	2 (50,0)	1 (33,3)	5 (17,9)	23 (8,7)
Infecção pelo HIV*							
Negativo	153 (81,4)	11 (78,6)	4 (80,0)	4 (100,0)	3 (100,0)	22 (84,6)	175 (81,8)
Positivo	35 (18,6)	3 (21,4)	1 (20,0)	-	-	4 (15,4)	39 (18,2)
Status no início do trat.							
Caso Novo	191 (81,3)	9 (56,3)	3 (60,0)	1 (25,0)	2 (66,7)	15 (53,6)	206 (78,3)
Retratamento/pós-cura	21 (8,9)	4 (25,0)	1 (20,0)	-	1 (33,3)	6 (21,4)	27 (10,3)
Retratamento/por aban.	23 (9,8)	3 (18,8)	-	1 (25,0)	-	4 (14,3)	27 (10,3)
Falência trat. anterior	-	-	1 (20,0)	2 (50,0)	-	3 (10,7)	3 (1,1)
Tipo Tratamento Atual*							
Auto administrado	121 (52,2)	8 (50,0)	3 (60,0)	3 (75,0)	2 (66,7)	16 (57,1)	137 (54,7)
Supervisionado	111 (47,8)	8 (50,0)	2 (40,0)	1 (25,0)	1(33,3)	12 (42,9)	123 (47,3)
Esquema de tratamento							
RHZ	3 (1,3)	1 (6,2)	-	-	-	1 (3,6)	4 (1,5)
RHZE	225 (95,7)	13 (81,3)	2 (40,0)	1 (25,0)	3 (100,0)	19 (67,8)	244 (92,8)
Outro	7 (3,0)	2 (12,5)	3 (60,0)	3 (75,0)	-	8 (28,6)	15 (5,7)
Internações*							
Não	193 (82,1)	11 (68,8)	4 (80,0)	3 (75,0)	3 (100,0)	21 (75,0)	214 (81,4)
Sim	42 (17,9)	5 (31,3)	1 (20,0)	1 (25,0)	-	7 (25,0)	49 (18,6)
Desfecho Tratamento Atual*							
Cura	166 (73,1)	12 (75,0)	2 (40,0)	1 (33,3)	1 (33,3)	16 (59,3)	182 (71,7)
Abandono	51 (22,5)	3 (18,8)	1 (20,0)	-	-	4 (14,8)	55 (21,7)
Óbito TB	5 (2,2)	-	1 (20,0)	1 (33,3)	-	2 (7,4)	7 (2,8)
Óbito Não TB	5 (2,2)	-	-	-	-	-	5 (2,0)
Falência	-	1 (6,2)	1 (20,0)	1 (33,3)	2 (66,6)	5 (18,5)	5 (2,0)

TBP: Tuberculose Pulmonar. MR: Multidroga Resistente. XR: Extensivamente Resistente. RHZ: Esquema 1 (2RHZ / 4RH) - R (Rifampicina) – H (Isoniazida) – Z (Pirazinamida) – E (Etambutol). RHZE: Esquema Básico EB - 2RHZE/ 4R. HIV: Vírus Imunodeficiência Humana. Aban.: Abandono

*Quando a soma das categorias de cada variável for menor que o número de casos estudados, a diferença decorre da ausência de informação.

Em 18,5% dos resistentes a ao menos uma droga observou-se falência do tratamento. Ao observarmos os desfechos dos nove casos de TBMR, incluindo os quatro TBXR, observamos que a taxa de cura foi 44,4% (4/9), a de abandono 11,1% (1/9), a de falência de 22,2% (2/9) e de óbitos 22,2% (2/9).

O número médio de comunicantes entre os casos resistentes a ao menos uma droga e sensíveis foi de, respectivamente, 1,9 e 2,47. A proporção de comunicantes examinados foi maior entre os resistentes a ao menos uma droga (47,4% versus 11,3%; $p < 0,001$); com menor proporção de comunicantes doentes entre os examinados (3,6% versus 66,7% $p < 0,001$).

Figura 11 - Diagrama da evolução dos casos TBMR e TBXR. Município de Santos (SP), Brasil. 2011- 2012

Ao analisarmos a evolução dos casos de TBP resistentes ao menos uma droga, verificamos que os nove casos TBMR, incluindo os quatro TBXR, verificamos que 37,0% (7/19) dos monoresistentes ou com outro perfil apresentaram retratamento no curso da evolução (Figura 11 e 12).

Figura 12 - Diagrama da evolução dos casos Monoresistente ou outros perfis de resistência (B). Município de Santos (SP), Brasil. 2011- 2012

A análise da distribuição espacial dos casos de TBP resistentes a ao menos uma droga foi possível em 94,4% (27/28) dos casos, tivemos um caso excluído por não apresentar residência fixa (Figura 13). A figura mostra que os bairros com melhores condições de vida, isto é, baixíssima ou baixa vulnerabilidade social, concentram menor número de casos.

Figura 13 - Distribuição espacial dos casos de TBP resistentes ao menos uma droga, segundo índice de vulnerabilidade social. Município de Santos (SP), Brasil. 2011- 2012

Dos 28 casos de TBP resistente ao menos uma droga, a técnica de RFLP foi possível em 89,3% (25/28) deles. Destes foram identificados 19 diferentes padrões, os isolados de 13/25 (52,0%) casos tinham padrões individuais e os isolados dos demais 12/25 (48,0%) casos apresentavam padrões de grupo – “clusters”. Os isolados desses doze casos formaram 6 distintos “clusters” (CL) denominados CL I, CL II, CL III, CLIV, CLV e CLVI, sendo cada grupo composto por dois isolados. Três (50,0%) entre os seis “clusters” exibiram o mesmo perfil de resistencia, e em 87,5% dos casos de TBMR observou-se a existência de 7 genótipos diferentes, ou seja, não pertencem a “clusters” (Figura 14).

TBMR: Tuberculose Multidroga Resistente. TBXR: Tuberculose Extensivamente Resistente. R: Rifampicina. I: Isoniazida. S: estreptomicina. E: Etambutol. F: Feminino. M: Masculino.

Figura 14 - Dendrograma representando os diferentes padrões de RFLP encontrados em isolados de *M. tuberculosis* resistentes a ao menos uma droga, segundo características do caso. Município de Santos (SP), Brasil. 2011-2012. Município de Santos (SP), Brasil. 2011-2012

Os grupos de clusters CLI e CLIV foram formados por pacientes com o mesmo perfil de resistência e no mesmo ano de notificação (Figura 14).

A distribuição espacial dos clusters encontrados pode ser verificada na Figura 15.

Figura 15 - Distribuição espacial dos clusters identificados, segundo índice de vulnerabilidade social. Município de Santos (SP), Brasil. 2011-2012

Os clusters assinalados estão, na sua maioria, concentrados em regiões de maior vulnerabilidade, podemos verificar maior proximidade do CLIII na região da Orla Marítima, região mais rica do município. A região da Zona Noroeste é que apresenta maior taxa de incidência do município e expressa maior números dos clusters identificados. Entre os 12 casos que apresentavam padrões de grupo – “clusters”, a resistência primária e adquirida foi verificada, respectivamente, em 33,3 % e 66,7% dos clusters.

Ao compararmos os “clusters” e não “clusters” não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas, entre os dois grupos, em relação ao maior número de tratamento anterior entre os clusters (66,7% versus 33,3; $p=0,073$) e maior cura (63,6 versus 55,3; $p=0,538$; $p=0,628$) (Tabela 5). Possivelmente a ausência de diferenças seja explicada pelo pequeno tamanho da amostra.

Tabela 5 - A análise da associação entre as co-variáveis e genotipagem (RFLP) padrão (Cluster ou Não - cluster) de isolados de *Mycobacterium tuberculosis* de casos de TBP. Município de Santos (SP), Brasil, 2011-2012

Características	Clusters		Total n=25 N (%)	Valor de p
	Não n= 13 N (%)	Sim n= 12 N (%)		
Sexo				0,568
Feminino	3 (23,1)	4 (33,3)	7 (32,0)	
Masculino	10 (76,9)	8 (66,7)	18 (68,0)	
Idade				0,834
Mediana idade (em anos)	40 anos	45 anos	42 anos	
15 a 29 anos	3 (23,1)	2 (1,6)	5 (20,0)	
40 a 49 anos	6 (46,1)	5 (41,7)	11 (44,0)	
50 anos ou +	4 (30,8)	5 (41,7)	9 (36,0)	
Escolaridade*				0,656
< 7 anos	4 (36,4)	6 (54,5)	10 (45,6)	
7 - 11 anos	5 (45,4)	4 (36,4)	9 (41,0)	
> 12 anos ou mais	2 (18,8)	1 (9,1)	3 (13,4)	
Infecção p/HIV*				0,537
Não	10 (83,3)	11 (91,7)	21 (87,5)	
Sim	2 (16,7)	1 (8,3)	3 (12,5)	
Perfil Resistencia				0,460
TBMR	3 (23,1)	1 (8,3)	4 (16,0)	
TBXR	1 (7,7)	3 (25,0)	4 (16,0)	
Monoresistente/Outro	9 (69,2)	8 (66,7)	17 (68,0)	
Diabetes				0,548
Não	11 (84,6)	9 (75,0)	20 (80,0)	
Sim	2 (15,4)	3 (25,0)	5 (20,0)	
TB no passado				0,073
Não	9 (69,2)	4 (33,3)	13 (52,0)	
Sim	4 (30,8)	8 (66,7)	12 (48,0)	
Desfecho anterior				0,060
Cura	-	5 (62,5)	5 (41,7)	
Abandono	3 (75,0)	1 (12,5)	4 (33,3)	
Falência	1 (25,0)	2 (25,0)	3 (25,0)	
Internação**				0,748
Não	9 (69,2)	9 (75,0)	18 (72,0)	
Sim	4 (30,8)	3 (25,0)	7 (28,0)	
Desfecho Tratamento atual*				0,840
Cura	7 (57,1)	7 (63,6)	14 (58,3)	
Abandono	2 (15,4)	2 (18,2)	4 (16,7)	
Obito TB	1 (7,7)	1 (9,1)	2 (8,3)	
Falência	3 (23,1)	1 (9,1)	4 (16,7)	

TBP: Tuberculose Pulmonar, HIV: Vírus Imunodeficiência Humana.

* Quando a soma das categorias de cada variável for menor que o número de casos estudados, a diferença decorre da ausência de informação.

** Internação no tratamento atual.

5 DISCUSSÃO

Os resultados apresentados por este estudo apontam a expressiva carga da TB na população residente no município de Santos (SP), a qual é expressa pela alta incidência, bem acima da incidência média do estado de São Paulo (São Paulo, 2012), elevada prevalência de co-infecção TB/HIV e de pacientes com história prévia de TB entre os que iniciam o tratamento. Acresça-se a isto, o fato de que cerca de um quinto dos pacientes incluídos no estudo foram internados por período médio de cinco meses.

Tais números não são consistentes com os bons indicadores sociais e econômicos do município e, especialmente, pelo fato de contar com uma boa cobertura de serviços básicos de saúde (São Paulo, 2012), assim como com o acesso universal e gratuito ao diagnóstico e ao tratamento da TB. Ainda que em parte, tal situação possa ser explicada pela elevada incidência de AIDS no município, uma das mais elevadas no estado de São Paulo (São Paulo 2010).

Com referência à multidroga resistência, chama a atenção que mais de 3% dos casos estudados eram TBMR e quase a metade destes eram TBXR e em um terço deles a resistência era primária, apontando a dificuldade do serviço em rastrear casos entre os comunicantes. Fato consistente com a baixa proporção de comunicantes examinados.

Ainda que tais números sejam desfavoráveis, os indicadores apresentados expressam uma melhora em relação à primeira metade da década passada (Coelho et al., 2009), sugerindo avanços do programa na direção do cumprimento das metas do PNCT; estudos mais recentes sobre TBMR no município, abrangem dados somente de pacientes que apresentam

fatores de risco para TBMR (Coelho et al., 2012).

Em função do custo o Brasil não adota ainda, no início do tratamento, a realização sistemática de cultura para isolamento do *Mycobacterium tuberculosis*, assim como, o TS aos fármacos. Tais exames são indicados apenas em casos de risco para resistência primária (recidiva de tuberculose, história de internação hospitalar, ter sido preso, ser morador de rua e presença de comorbidades, como a infecção pelo HIV) ou para resistência adquirida (casos com relato de problemas na adesão ao tratamento) (Bastos et al., 2012).

Outra justificativa para a não realização de cultura para *M. tuberculosis* e de TS em pacientes sem tratamento prévio tem como fundamento os dados dos inquéritos de resistência divulgados em nota técnica pelo Ministério da Saúde (MS) do Brasil, assim como a premissa de que o risco de resistência primária não é significativo nos pacientes que não pertencem aos grupos descritos acima. No entanto, a baixa taxa de cura associada à elevada taxa de abandono do tratamento e a consequente baixa efetividade do tratamento em muitas regiões do Brasil, sugere que casos de resistência primária possam não estar restritos aos grupos definidos como de risco (Brasil, 2012).

Assim, podemos afirmar que conhecer, o mais precocemente possível, o perfil de resistência às drogas Antituberculose é fundamental para adequada terapia e também para a adoção de medidas eficazes de prevenção à disseminação de bacilos resistentes.

O tratamento incorreto é o principal fator de risco para o desenvolvimento de resistência, e é geralmente associada com o uso intermitente de medicamentos, erros de prescrição médica, a baixa adesão do

paciente e baixa qualidade das drogas (Dye et al., 2010; Matteelli et al., 2014).

Atualmente os sistemas automatizados de cultura líquida para detecção de TBMR são recomendados e considerados padrão-ouro para o TS às drogas de segunda linha, permitindo a identificação de TBXR em 4-9 semanas; por ser um método trabalhoso, caro e requerer um laboratório de nível de biossegurança 3, dificulta sua universalidade (WHO, 2008).

Assim, em 2012, no mundo, apenas 5% dos novos casos de TB bacteriologicamente confirmados foram submetidos ao TS para a primeira linha de medicamentos contra a TB (WHO, 2013a). Além disso, o TS para fluoroquinolonas e drogas injetáveis de segunda linha foi realizado apenas em 23% dos pacientes confirmados de TBMR, com cobertura variando entre os países do globo (Glaziou et al., 2013). Em nosso estudo 78,0% dos casos novos de TBP notificados pela rede pública foram submetidos ao TS, sendo o TS para as drogas de segunda linha realizado em 100,0% dos casos TBMR, mostrando cobertura melhor que encontrada na literatura.

A literatura destaca diferenças significativas na epidemiologia da TBMR entre casos brasileiros países desenvolvidos, pois estes investiram no controle da TB através do investimento em políticas sociais e de saúde que visavam a qualidade de vida da população como o melhor acesso aos serviços de saúde e tratamento adequado dos casos diagnosticados. No Brasil apesar de termos, ao longo dos anos, desenvolvido políticas nacionais específicas ao controle da doença, estudos afirmam que a introdução de esquemas terapêuticos em associação a um sistema de saúde ainda frágil, com elevadas taxa de abandono do tratamento pelos pacientes, foi um dos fatores que desencadearam o aumento do número de casos de TBMR nos últimos 20 anos

(Melo et al, 2003; Almeida et al. 2013).

No presente estudo, TBMR foi responsável por 3,4% do total de casos de TBP selecionados e 32,0% dos casos de TB resistentes a ao menos uma droga. A prevalência de TBMR foi de 1,9% e 8,8% entre os casos novos de tuberculose e com tratamento anterior para a doença, respectivamente.

Dos 9 casos caracterizados com TBMR, dois terços eram do sexo masculino, predominantemente entre maiores de 30 anos com mais de sete anos de estudo. Com exceção da escolaridade os números encontrados para as características sociodemográficas, foram semelhantes aos relatados por Almeida et al. (2013) ao realizarem um estudo retrospectivo, do perfil de 645 casos de TBMR notificados no SINAN¹¹ entre os anos de 2008 e 2012.

A literatura destaca a infecção pelo HIV como um dos principais fatores de risco ao desenvolvimento de TB. Em 1997, a partir do I Consenso Brasileiro de TB, o teste sorológico para HIV passou a ser recomendado à todos os casos diagnosticados de TB. Neste estudo a coinfeção TB/HIV foi investigada em aproximadamente quatro quintos do grupo estudado, proporção bem acima da média nacional de 59%, encontrada em 2007 (Barreira, 2009).

A associação da TBMR e o HIV são destacados em diversos estudos brasileiros como esporádica, não sendo este considerado fator de risco ao desenvolvimento de multirresistência (Telles et al., 2005; Coelho et al., 2009, Coelho et al., 2012). Em nosso estudo todos os casos de TBMR foram testados para a infecção pelo HIV e apenas um mostrou-se HIV positivo.

Estudos destacam que a prevalência de diabetes vem aumentando no globo, gerando problemas de saúde pública. A literatura internacional destaca

¹¹ Sistema de Notificação Nacional.

que pacientes de diabetes têm maior risco de desenvolver TB, devido a alteração imunológica desencadeada pelo agravo. No Brasil são escassos os estudos que abordem a associação entre TB e diabetes, e não apresentam propostas de ações integradas (Reis-Santos et al 2014).

Ottmani et al. (2010) ao estudar pacientes com diabetes e que desenvolveram TB apresentaram pioras clínicas mais rápidas e significativas do que pacientes não diabéticos. Esse dado aponta para a necessidade de se diagnosticar a diabetes em pacientes com TB, para que se possa ter uma assistência direcionada às especificidades do caso.

Estudo transversal com dados secundários do SINAN, realizado por Santos (2013) no Estado de Minas Gerais, entre 2007 - 2011 verificou que entre as notificações de TB, 6,1% tinham diabetes. Nosso estudo apresentou números maiores entre os casos selecionados (8,7%) e aproximadamente três vezes mais entre os TBMR (17,9%).

Nessa abordagem, vale destacar que a partir de 2011, com parceria da OPA, Ministérios da Saúde do Brasil e do México, estudo piloto em três cidades (São Paulo, Salvador e uma no México), está sendo desenvolvido, com objetivo de rastrear TB em pelo menos 1.000 pacientes com diabetes em cada uma dessas cidades, totalizando no mínimo 3.000 pacientes. O estudo se justifica diante da incidência crescente de diabetes no Brasil, sendo o agravo um risco potencial ao aumento de casos da TB nas Américas (WDF¹², 2013).

A proporção de casos de retratamento entre os TBMR estudados foi menor (40%) que os assinalados por Sotgiu et al (2009) ao realizarem uma revisão sistemática de 13 estudos sobre a epidemiologia e manejo clínico de

¹² World Diabetes Foundation.

TBXR, variando de 48% a 98%. Ao avaliarmos a história pregressa entre os TBXR foi consistentemente maior (75%) do que nos casos de TBMR, aproximando-se aos valores relatados no mesmo estudo (45% - 100%).

Apesar da ação não ser desenvolvida com eficácia comprovada, todo contato familiar ou próximo devem ser investigados imediatamente após o diagnóstico do caso índice, e após em intervalos regulares de acompanhamento, independente do perfil de resistência às drogas. Essa investigação permite a avaliação clínica e o diagnóstico precoce de casos secundários (Pontali et al, 2011; Matteelli et al. 2014).

Apesar de não termos evidências plausíveis, a investigação sistemática de contatos é maneira eficaz para se interromper a transmissão da doença, sendo componente essencial aos PCTB, principalmente em locais de elevada carga da doença. Em nosso estudo pudemos verificar que entre os casos de TBMR e TBXR foram identificado apenas 23 contatos e menos de 50% foi examinado.

Com relação ao desfecho dos casos de TBMR e TBXR a cura foi observada em 40% e 33% dos casos, respectivamente. Esses números são semelhantes aos resultados de estudos revisados por Sotgiu et al (2009), onde a cura entre os casos de TBXR variou de 19% a 34%. No mesmo estudo os autores destacam que ao avaliarem as taxa de sucesso de tratamento entre casos de TBXR e TBMR, em 50% dos estudos não foram observadas diferenças significantes, enquanto que nos demais a taxa de sucesso foi reduzida de forma significativa entre os casos de TBXR, de 1,5 vezes até 20 vezes, o que comprova as dificuldades de sucesso no tratamento desses casos.

As taxas de mortalidade encontradas no estudo para os casos de TBMR (25%) e TBXR (33,3%) estão elevadas e próximas às relatadas na literatura (Sotgiu et al. 2009).

Pesquisas destacam que a resistência a medicamentos de segunda linha está fortemente associada a dois ou mais ciclos de tratamento anterior, sendo maiores entre os casos TBXR; no estudo os casos de TBMR e TBXR, apresentaram em média 0,8 e 3,3 ciclos de tratamento por paciente, respectivamente (Figura 11). Podemos verificar ainda que 100% dos pacientes TBXR foram diagnosticados anteriormente como caso de TBMR, números tão elevados quanto (72%) aos relatados em estudo de coorte retrospectivo conduzido na África do Sul (Dheda et al., 2010) dados esses que salientam as dificuldades enfrentadas pelos programas de controle da doença.

Para se conhecer a transmissão de *M. tuberculosis* entre pacientes resistentes a ao menos uma droga, utilizou-se o método RFL – IS6110. Segundo a literatura, o surgimento de cepas de *M. tuberculosis* pertencentes a um mesmo grupo genético, formado por dois ou mais isolados, aponta transmissão recente da doença. Isolados de grupos genéticos únicos, sugerem reativação de infecção latente adquirida no passado, em mesmo local/cidade ou não (van Embden et al., 1993; Ferrazoli et al., 2000).

Utilizando-se das informações clínico-epidemiológicas deste estudo, verificamos que entre os 25 casos de TBP cujos *M. tuberculosis* foram submetidos a genotipagem, praticamente metade pertenciam a seis *clusters*, sugerindo infecção por cepa já resistente. Entre estes 4 (33,3%) eram casos novos; os dados disponíveis não possibilitaram a identificação de vínculo epidemiológico entre os casos. Importante destacar que não verificamos

nenhum grupo genético dominante entre os casos.

A interpretação dos resultados apresentados deve levar em conta algumas limitações do estudo, entre elas, o fato de ter analisado dados secundários, os quais podem ser influenciados pela falta de completude. Por outro lado, apesar do estudo ser de base populacional, os dados analisados são de pacientes atendidos por serviços públicos de saúde, portanto, um segmento da população com maior proporção de indivíduos que vivem em condições mais desfavoráveis, o que talvez tenha superestimado as taxas de desfechos desfavoráveis. Problemas no encaminhamento inadequado das amostras para o exame de cultura, ocasionando a contaminação do teste, bem como as amostras encaminhadas de pacientes em tratamento, impossibilitam o isolamento do agente e consequentemente a realização do TS; no estudo essas ocorrências inviabilizaram o isolamento em 43,0% (198/461) dos casos de TBP notificados pela rede pública de saúde do município. Destacamos ainda o fato de que as conclusões sobre a proporção de clusters podem ser afetadas pela incidência de TB, pela heterogeneidade da população e pelo tamanho da amostragem incluída no estudo.

No entanto, apesar dessas limitações, os resultados encontrados são consistentes com a literatura e úteis, pois podem subsidiar políticas públicas voltadas ao aprimoramento do Programa de Controle da TB. A magnitude da TBMR e da TBXR torna relevante a universalização da prova de sensibilidade, do tratamento supervisionado e da investigação rotineira dos contatos, assim como o monitoramento da resistência a drogas. O fortalecimento da vigilância da resistência às drogas é indispensável para o contínuo aperfeiçoamento do

Programa de Controle da TB, especialmente em regiões de elevada carga da doença.

Novos estudos devem ser realizados para ampliar nosso conhecimento sobre este assunto, permitindo a investigação de associações entre as diversas variáveis e a proporção de cluster no município, bem como possíveis ligações epidemiológicas.

6 CONCLUSÕES

1 – O município de Santos constitui uma área de elevada incidência de TBP, com taxa anual média de incidência entre maiores de 15 anos, entre 2011 – 2012, de 67,4/100.000 habitantes ano, com amplas disparidades conforme a região de residência, variando de 34,7 a 115,8/100.00 habitantes-ano.

2 - Dos 263 casos de TBP estudados, 68,4% (180/263) eram homens, a mediana da idade foi de 38 anos, 48,9% (88/180) possuíam menos de sete anos de estudo, 21,7% (57/263) possuíam história anterior de TB, 8,7% (23/263) eram diabéticos, 18,2% apresentavam coinfeção HIV/TB.

3 - Entre os casos novos de TBP notificados, 13,3% (22/166) apresentavam coinfeção HIV/TB, 71,8% (148/206) curaram-se, enquanto que, a taxa de cura situou-se em 66,7% (18/27) e 55,5% (15/27), respectivamente, entre os casos submetidos a retratamento pós cura e pós-abandono. Por sua vez, entre os três casos que evoluíram para falência, somente um curou-se.

4 - Dos pacientes estudados, 47,3% (123/260) receberam tratamento supervisionado, no entanto, essa proporção não apresentou diferenças significativas conforme o *status* do paciente no início do tratamento, tendo sido de 50,2%, 37,0% e 37,0% ($p=0,358$). Por outro lado, 18,6% (49/263) foram hospitalizados durante o tratamento, perfazendo 7.127 dias de internação com uma média de 145,4 dias por paciente, com uma letalidade de 14,3%.

5 - Dos 617 contatos identificados entre os 263 pacientes incluídos no estudo, verificamos que 14,7% (91/617) deles foram examinados e entre estes, 47,2% (43/91) mostraram-se doentes. Entre os 57 casos de retratamento foram identificados 95 contatos, 22 (23,2%) deles foram examinados e 9 (41,0%) apresentavam TB.

6 - Dos 263 pacientes cujas cepas de *M. tuberculosis* foram submetidas ao TS, 28 (10,6%) casos mostraram-se resistentes a ao menos uma droga. A

resistência à INH foi encontrada em 8,4% (22/263) e à RIF 3,8% (10/263), 3,4% (9/263) eram TBMR, sendo que entre os últimos 4 eram TBXR

7 - Entre os casos novos, 92,7% (191/206) foram sensíveis a todas as drogas e 7,3% (15/206) resistentes ao menos a uma droga, dentre estes, 5,3% (11/206) eram resistentes a INH, 1,9% (4/206) a RIF e 1,9% (4/206) eram TBMR, sendo que um dos quatro TBMR era TBXR.

8 - Entre os pacientes com tratamento prévio, 77,2% (44/57) eram sensíveis a todas as drogas, 22,8% (13/57) resistentes ao menos a uma droga, entre as quais, 19,3% (11/57) eram resistentes a INH e 10,5% (6/57) resistentes a RIF, 8,8% (5/57) eram TBMR dos quais três eram TBXR.

9 - O número médio de comunicantes entre os casos resistentes a ao menos uma droga e sensíveis foi de, respectivamente, 1,9 e 2,47. A proporção de comunicantes examinados foi maior entre os resistentes a ao menos uma droga (47,4% versus 11,3%; $p < 0,001$).

10 – No presente estudo, TBMR foi responsável por 3,4% do total de casos de TBP selecionados e 32,0% dos casos de TB resistentes a ao menos uma droga. A prevalência de TBMR foi de 1,9% e 8,8% entre os casos novos de tuberculose e com tratamento anterior para a doença, respectivamente. A resistência primária foi encontrada em 44,4% (4/9) das TBMR, sendo que uma delas era TBXR.

11 - A incidência média de TBMR, entre maiores de 15 anos, entre 2011-2012, de 0,57/100.000 habitantes /ano e prevalência de 1,3/100.000 habitantes / ano.

12 – Dos 28 casos de TBP resistente ao menos uma droga, a técnica de RFLP foi possível em 89,3% (25/28) dos casos. Destes 13 isolados (52,0%) tinham padrões individuais e 12 (48,0%) apresentavam padrões de grupo.

7 ANEXOS

Anexo A – Aprovação Comitê Ética FMUSP

APROVAÇÃO

O Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em **03.05.2011**, após atendimento a diligência encaminhada **APROVOU *ad-referendum*** o Protocolo de Pesquisa nº **134/11**, intitulado: **"Fatores Associados à Tuberculose Multirresistente. Município de Santos – São Paulo(SP)"**, apresentado pelo Departamento de **Moléstias Infecciosas e Parasitárias**.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa.

Pesquisador (a) Responsável: Eliseu Alves Waldman

Pesquisador (a) Executante: Andréa Gobetti Vieira Coelho

CEP-FMUSP, 03 de maio de 2011.

Prof. Dr. Roger Chammas
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

Anexo B – Aprovação Comitê Ética Instituto Adolfo Lutz

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS
INSTITUTO ADOLFO LUTZ
Comitê de Ética em Pesquisa - CEPAL
Av. Dr. Arnaldo, 355 – Sala 83 - Cerqueira César - 01246-902
Fone: 3068-2859 e-mail: cepal@ial.sp.gov.br

São Paulo, 26 de janeiro de 2011.

Protocolo: 002/2011

Projeto de Pesquisa: "Fatores associados à tuberculose multirresistente em área endêmica. Município de Santos – São Paulo (SP)".

Pesquisador Responsável: Andréa Gobetti Coelho Bombonatte

Instituição: Instituto Adolfo Lutz

O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz – CEPAL analisou e deliberou em reunião extraordinária de 20 de janeiro de 2011, de acordo com a Resolução CNS nº 196 de 10 de outubro de 1996 e suas resoluções complementares, o projeto na categoria **APROVADO**.

Em conformidade com o item IX. 2 da Resolução CNS nº 196/96 - cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar os relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo, sob sua guarda, por 5 anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar, perante o CEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Os relatórios parciais deverão ser encaminhados ao CEPAL cada seis meses a partir do início da pesquisa.

Luz Marina Trujillo

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
Instituto Adolfo Lutz – CEPAL

1ª via – coordenador
2ª via – CEPAL
LMT/dmp

Anexo C – Aprovação Conselho Técnico Científico Instituto Adolfo Lutz

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS
INSTITUTO ADOLFO LUTZ
CTC / IAL

Projeto nº 0070D-2010 (Protocolo 102676/2010)

Fatores associados à tuberculose multirresistente em área endêmica - Município de Santos - São Paulo/SP

Coordenação: Andréa Gobetti Coelho Bombonatto

Senhora Coordenadora,

Comunicamos que o projeto supra citado foi cadastrado no Conselho Técnico Científico do Instituto Adolfo Lutz, após aprovação quanto o mérito científico e após aprovação quanto aos aspectos éticos pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz

ADRIANA BUGNO
Presidente do CTC/IAL

São Paulo, 28 de Janeiro de 2011

1ª via: CTC/IAL
2ª via: Coordenador

8 REFERÊNCIAS*

Abubakar I, Zignol M, Falzon D, Raviglione M, Ditiu L, Masham S, Adetifal, Ford N, Cox H, Lawn SD, Marais BJ, McHugh TD, Mwaba P, Bates M, Lipman M, Zijenah L, Logan S, McNerney R, Zumla A, Sarda K, Nahid P, Hoelscher M, Pletschette M, Memish ZA, Kim P, Hafner R, Cole S, Migliori GB, Maeurer M, Schito M, Zumla S. Drug-resistant tuberculosis: time for visionary political Leadership. *Lancet Infect Dis*. 2013; 13 (6):529-39.

Almeida E A, Santos M A A, Afiune J B, Spada D T A, Melo F A F. Rendimento da cultura de escarro na comparação de um sistema de diagnóstico automatizado com o meio de Lowenstein-Jensen para o diagnóstico da tuberculose pulmonar. *J Bras Pneumol* 2005; 31 (3) 231- 4.

Almeida MG, Barbosa DRM, Almeida DFS. Epidemiologia e distribuição espacial de casos notificados de tuberculose multirresistente (TBMR) no Brasil, 2008-2012. *Rev Epidemiol Control Infect*. 2013; 3(4): 117-122.

Anthony RM, Cobelens FGJ, Gebhard A, Klatser PR, Lumb R, Rusch-Gerdes S, Soolingen D. van. Liquid culture for *Mycobacterium tuberculosis*: proceed, but with caution. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13(9): 1051-3.

Ardito F, Posteraro B, Sanguinetti M, Zanetti S, Fadda G. Evaluation of Bactec Mycobacteria Growth Indicator tube (MGIT 960) automated system for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Clinical Microbiology* 2001; 39(12): 4440- 44.

Baliza M, Bach AH, Queiroz GL, Melo IC, Carneiro MM, Militão MFPMA, Suffys P, Rodrigues L, Ximenes R, Lucena-Silva N. High frequency of resistance to the drugs isoniazid and rifampicin among tuberculosis cases in the City of Cabo de Santo Agostinho, an urban area in Northeastern Brazil. *Rev. da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2008; 41 (1): 11-6.

Barbosa EL, Levino A. Análise da coinfeção TB/HIV como fator de desenvolvimento da tuberculose multidroga resistente: uma revisão sistemática. *Rev Pan-Amaz Saude* 2013; 4 (4): 57-66.

Barreira D. Os desafios para o controle da co-infecção TB/HIV no Brasil. *Revista Saber Viver Profissional de Saúde* 2009; 16:14. [citado out. 2014]. Disponível em: <http://saberviver.org.br/publicacoes/os-desafios-para-o-controle-da-co-infeccao-tbhiv-no-brasil/>

Barreira D, Grangeiro A. Avaliação das estratégias de controle da tuberculose no Brasil. *Rev Saúde Pública* 2007; 41(Supl.1): 4-8.

* De acordo com:

Adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus

Barreto, Lourenço MCS, Rolla VC, Veloso VG, Huf G. Utilização do amplified Mycobacterium tuberculosis direct test em amostras respiratórias de pacientes HIV positivos no Brasil. J Bras Pneumol. 2014; 40(2): 148-154.

Barroso EC, Mota RMS, Santos ROP, Sousa ALO, Barroso, JBB, Rodrigues JLN. Risk factors for acquired multidrug-resistant tuberculosis. J Pneumol 2003; 29 (2): 89-97.

Bastos GM, Cezar MC, Mello FC, Conde MB. Prevalence of primary drug resistance in pulmonary tuberculosis patients with no known risk factors for such. J Bras Pneumol. 2012; 38 (6):733-9.

Bates M, Ahmed Y, Chilukutu L, Tembo J, Cheelo B, Sinyangwe S, Kapata N, Maeurer M, O'Grady J, Mwaba P, Zumla A. Use of the Xpert® MTB/RIF assay for diagnosing pulmonary tuberculosis morbidity and multidrug-resistant TB in obstetrics and gynaecology inpatient wards at the University Teaching Hospital, Lusaka, Zambia. Trop Med Int Health 2013; 18(9): 1134–1140.

Becton Dickinson. BBL™ MGIT™960 Mycobacteria Growth Indicator Tube 7ml. Instruções de uso. 2006.

Boehme CC, Nicol MP, Nabeta P, Michael JS, Gotuzzo E, Tahirli R, et. al. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study. Lancet 2011; 377 (9776):1495-505.

Borroto-Gutiérrez S, Armas-Pérez L, González-Ochoa E, Pealáez-Sánchez O, Arteaga-Yero AL, Sentilhes A, et al. Distribución y tendencia de tuberculosis por grupos de edades y por municipios en ciudad de la Habana, Cuba (1986-1998). Rev Esp Salud Pública 2000; 749(5-6): 507-15.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Centro de referência Professor Hélio Fraga. Projeto MSH. Tuberculose Multirresistente – Guia de Vigilância Epidemiológica. Rio de Janeiro: MS, 2007. 90p.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras Micobactérias. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 436p.

Brasil. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico 2010. [citado maio 2014]. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br>

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil. Brasília, 2011a.

Brasil. Ministério da Saúde. SINAN (Sistema Nacional de Agravos de Notificação). Taxas de incidência de tuberculose. 2011b. [citado maio 2011]. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/taxa_incidencia_tuberculose.pdf

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Controle da Tuberculose. Tuberculose no Brasil: realidades e perspectivas. 2012. [citado jun. 2014]. Disponível em: http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/arquivos/bolepi_vol_43_n1.pdf.

Brito RC, Gounder C, Lima DB, Siqueira H, Cavalcanti HR, Pereira MM, Kritski AL. Resistência aos medicamentos anti-tuberculose de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* isoladas de pacientes atendidos em hospital geral de referência para tratamento de AIDS no Rio de Janeiro. J Bras Pneumol 2004; 30(4): 335-42.

Brito RC, Mello FC, Andrade MK, Oliveira H, Costa W, Matos HJ, Lourenço MC, Rolla VC, Fonseca L, Ruffino Netto A, Kritski AL. Drug-resistant tuberculosis in six hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. Int J Tuberc Lung Dis. 2010; 14 (1): 24-33.

Cammineiro JA. Multidrug-resistant tuberculosis: epidemiology, risk factors and case finding. Int J Tuberc Lung Dis. 2010; 14 (4): 382-390.

Campos HS. Diagnóstico da tuberculose. Pulmão RJ 2006; 15 (2): 92-99.

Campos HS. Tratamento da tuberculose. Pulmão RJ 2007; 16 (1): 21-31.

Case C, Kandola K, Chui L, Li V, Nix N, Johnson R. Examining DNA fingerprinting as an epidemiology tool in the tuberculosis program in the Northwest Territories, Canada. Int J Circumpolar Health 2013; 72:1-8.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Emergence of *Mycobacterium tuberculosis* with extensive resistance to second-line Drugs — worldwide, 2000–2004. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006; 55: 301–05.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Emergence of *Mycobacterium tuberculosis* with extensive resistance to secondline drugs – world wide, 2000-2004. MMWR 2009; 13 (58): 01-05

Cepheid. Xpert® MTB/RIF. 2014. [citado set. 2014]. Disponível em: <http://www.cepheid.com/us/cepheid-solutions/clinical-ivd-tests/critical-infectious-diseases/xpert-mtb-rif>

Chen HG, Liu M, Jiang SW, Gu FH, Huang SP, Gao TJ, Zhang ZG. Impact of diabetes on diagnostic delay for pulmonary tuberculosis in Beijing. Int J Tuberc Lung Dis 2014; 18 (3): 267–271.

Chien HP, Yu MC, Wu MH, Lin TP, Luh KT. Comparison of the bactec MGIT 960 with Löwenstein-Jensen medium for recovery of mycobacteria from clinical specimens. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2000; 4 (9): 866-70.

Chimara E, Ferrazoli L, Ueki SYM, Martins MC, Durham AM, Arbeit RD, Leão SC. Reliable identification of mycobacterial species by PCR-restriction enzyme analysis (PRA)-*hsp65* in a reference laboratory and elaboration of a sequence-based extended algorithm of PRA-*hsp65* patterns. *BMC Microbiology* 2008; 8: 48.

Coelho AGV, Zamarioli LA, Reis CMPV, Figueiredo TRA. Estudo comparativo entre técnicas de Löwenstein-Jensen e do sistema MB/BacT™ no isolamento de micobactérias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 2005; 64 (1): 132-36.

Coelho AGV, Zamarioli LA, Reis CMPV, Duca BFL. Avaliação do crescimento em cordas na identificação presuntiva do complexo *Mycobacterium tuberculosis*. *J Bras Pneumol*. 2007; 33 (6): 707-11.

Coelho AG, Zamarioli LA, Perandones CA, Cuntiere I, Waldman EA. Characteristics of pulmonary tuberculosis in a hyperendemic area: the city of Santos, Brasil. *J Bras Pneumol*. 2009; 35 (10): 998-1007.

Coelho AGV, Zamarioli LA, Telles MA, Ferrazoli L, Waldman EA. A study of multidrug-resistant tuberculosis in risk groups in the city of Santos, São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2012; 107 (6): 760-66.

Cohn DL, Bustreo F, Raviglione MC. Drugresistant tuberculosis: review of the worldwide situation and the WHO/IUATLD Global Surveillance Project. *International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. Clin Infect Dis* 1997; 24 (Supl 1): 121-130.

Costa FD. A nova tecnologia GeneXpert® e seu impacto na organização de serviços, captação de casos e controle da TB droga resistente. 2013. [citado jun. 2014]. Disponível em: www5.ensp.fiocruz.br/biblioteca/dados/txt_238438472.ppt

Dalcomo MP, Andreade MKN, Picon PD. Tuberculose multirresistente no Brasil: histórico e medidas de controle. *Rev. Saúde Pública* 2007; 41(Supl 1): 34-42.

Dalcomo MP. Tratamento da Tuberculose Sensível e Resistente. *Pulmão RJ* 2012; 21 (1): 55-9.

Dalton T, Cegielski P, Akksilp S, Asencios L, Caoili JC, Cho SN, Erokhin VV, Ershova J, Gler MT, Kazenny BY, Kim HJ, Kliiman K, Kurbatova R, Kvasnovsky C, Leimane V, van der Walt M, Via LE, Volchenkov GV, Yagui MA, Kang H, Global PETTS Investigators. Prevalence of and risk factors for resistance to second-line drugs in people with multidrug-resistant tuberculosis in eight countries: a prospective cohort study. *The Lancet* 2012; 380 (9851): 1406-17.

Dheda K, Shean K, Zumla A, et al. Early treatment outcomes and HIV status of patients with extensively drug-resistant tuberculosis in South Africa: a retrospective cohort study. *The Lancet* 2010; 375 (9728):1798-1807.

Dye C, Williams BG. The Population Dynamics and Control of Tuberculosis. *Science* 2010; 328: 856-61

Donald PR. The Global Burden of tuberculosis – Combatins Drug resistance in Difficult Times. *N Engl J Med* 2009; 360 (23): 2393-95.

Dorman SE. New Diagnostic Tests for Tuberculosis: Bench, Bedside, and Beyond. *Clinic Infec Dis* 2010; 50 (Suppl 3): 173- 77. [citado set. 2014]. Disponível em: <http://cid.oxfordjournals.org/>

Espinal MA et al. Determinants of drug-resistant tuberculosis: analysis of 11 countries. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001; 5(10): 885-6.

Falzon D, Gandhi N, Migliori GB, Sotgiu G, Cox HS, Holtz TH, Hollm-Delgado MG, Keshavjee S, DeRiemer R, Centis R, D'Ambrosio L, Lange CG, Bauer M, Menzies M. Resistance to fluoroquinolones and second-line injectable drugs: impact on multidrug-resistant TB outcomes. *Eur Respir J*. 2013; 42(1):156-68.

Faustini A, Hall AJ, Perucci CA. Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe: a systematic review. *Thorax* 2006;61:158-163.

Ferrazoli L, Palaci M, Marques LRM, Jamal LF, Afiune JB, Chimara E, et al. Transmission of tuberculosis in an endemic urban setting in Brazil. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4:1-8.

Ferreira A C G, Silva Júnior J L R, Conde M B, Rabahi M F. Desfechos clínicos do tratamento de tuberculose utilizando o esquema básico recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil com comprimidos em dose fixa combinada na região metropolitana de Goiânia. *J Bras Pneumol*. 2013;39(1):76-83

Freitas FAD, Siqueira HR, Albano RM. Métodos moleculares na tuberculose e resistência do *Mycobacterium tuberculosis*. *Pulmão RJ* 2009; 18(2): 96-101.

García JS, Blanco AR, Pérez JLV, Viejo MAG, Hernández MJJ, López, Asensio OAN. Risk factors for multidrug-resistant tuberculosis in a tuberculosis unit in Madrid, Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009; 28:325–30.

Giampaglia, M. C. Martins, G. B. de Oliveira Vieira, S. A. Vinhas, M. A. da Silva Telles, M. Palaci, A. G. Marsico, D. J. Hadad, F. C. Q. Mello, L. de Souza Fonseca, A. Kritski. Multicentre evaluation of an automated BACTEC 960 system for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007; 11 (9): 986–991

Glaziou P, Falzon D, Floyd K, Raviglione M. Global Epidemiology of Tuberculosis. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine* 2013; 34: 03-16.

Günther G. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a review of current concepts and future challenges. *Clinical Medicine* 2014; 14(3): 279–85.

Huf G, Kritski A. Avaliação da utilidade clínica de novos testes diagnósticos em tuberculose: o papel dos ensaios clínicos pragmáticos. *J. Bras. Pneumol.* 2012; 38 (2): 237-245.

Kritski AL. Emergência de tuberculose resistente: renovado desafio. *J Bras Pneumol.* 2010; 36(2):157-8.

Kritski AL, Rodrigues de Jesus LS, Andrade MK, Werneck-Barroso E, Vieira MA, Haffner A, Riley LW. Retreatment Tuberculosis Cases Factors associated with drug resistance and adverse outcomes. *Chest* 1997; 111(5): 1162-7.

Kliiman K, Altraja A. Predictors of Extensively Drug-Resistant Pulmonary Tuberculosis. *Annals of Internal Medicine* 2009; 150(11): 766-77.

Lawn SD, Zumla AI. Tuberculosis. *Lancet* 2011; 378:52-72.

Lindoso AAB, PortelaWaldman EA; Komatsu NK; Figueiredo SM; Taniguchi M; Rodrigues LC. Profile of tuberculosis patients progressing towards death, city of São Paulo, Brazil, 2002. *Rev Saúde Pública* 2008; 42(5): 641-8.

Lemos ACM, Mato ED. Multidrug-resistant tuberculosis. *Braz J Infect dis.* 2013; 17 (2): 239–46.

Lonnroth K, Jaramillo E, Brian G. W, Dye C, Raviglione M. Drivers of tuberculosis epidemics: The role of risk factors and social determinants. *Social Science & Medicine* 2009; 68: 2240–6.

Luciani F, Sisson SA, Jiang H, Francis AR, Tanaka MM. The epidemiological fitness cost of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009; 106 (34):14711-5.

Matteelli A, Roggi A, Carvalho ACC. Extensively drug-resistant tuberculosis: epidemiology and management. *Clinical Epidemiology* 2014; 6: 111-118.

Melo FAF, Afiune JB, Neto IJ, Almeida EA, Spada DTA, Antelmo ANL, Cruz ML. Aspectos epidemiológicos da tuberculose multirresistente em serviço de referência na cidade de São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2003; 36(1): 27-34.

Micheletti VCD, Moreira JS, Ribeiro MO, Kritski AL, Braga JU. Tuberculose resistente em pacientes incluídos no II Inquérito Nacional de Resistência aos Fármacos Antituberculose realizado em Porto Alegre, Brasil. J Bras Pneumol. 2014; 40(2): 155-63.

Morrison J, Pai M, Hopewell PC. Tuberculosis and latent tuberculosis infection in close contacts of people with pulmonary tuberculosis in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis 2008; 8: 359–68.

Montoro E, Rodriguez R. Global burden of tuberculosis. In: Palomino, Juan Carlos; Leão Cardoso, Sylvia; Ritacco, Viviana. Tuberculosis 2007: From basic science to patient care. [citado jan. 2014]. Disponível em: Disponível em: www.TuberculosisTextbook.com

Murray CJL, Styblo K, Rouillon A. Tuberculosis. In: Jamison DT. Disease control priorities in developing countries. Oxford: Oxford Medical Publication. Oxford University press. 1993. p.233- 259.

Muyoyeta M, Schaap J A, Haas P, Mwanza W, Muvwimi M W, Godfrey-Faussett P, Ayles H. Comparasion of four culture sydtems for *Mycobacterium tuberculosis* in the Zambian National Reference Laboratory. Int J Tuberc Lung Dis 2009; 13 (4): 460-5.

Natal S. Emergência da resistência às drogas. Bol Pneumol Sanit 2002; 10: 57-70.

Nathanson E, Nunn P, Uplekar M, Floyd K, Jaramillo E, Lönnroth K, Weil D, Raviglione M, MDR Tuberculosis — Critical Steps for Prevention and Control. N Engl J Med 2010; 363:1050-8.

Nyendak RM, Lewinsohn DA, Lewinsohn DM. New diagnostic methods for tuberculosis. Curr Opin Infect Dis 2009; 22: 174-182.

Oliveira GP, Torrens AW, Bartholomay P, Barreira D. Tuberculosis in Brazil: last ten years analysis - 2001-2010. Braz J Infect Dis.2013; 17(2): 218-33.

Ohmori M, Ishkawa N, Yoshiyama T, Uchimura K, Aoki M, Mori T. Current epidemiological trend of tuberculosis in Japan. Int J Tuberc Lung Dis. 2002; 6(5): 415-23.

Ottmani SE, Murray MB, Jeon CY, Baker MA, Kapur A, Lönnroth K, Harries AD. Consultation meeting on tuberculosis and diabetes *mellitus*: meeting summary and recommendations. Int J Tuberc Lung Dis.2010; 14(12): 1513-7.

Pan American Health Organization. Manual de Normas y procedimientos tecnicos para la Bacteriologia de la tuberculosis. Parte III. Sensibilidad del Mycobacterium tuberculosis a las drogas. La identificación de micobactérias. Nota técnica 28. Centro Panamericano de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina. 1986.

Pan American Health Organization. Tuberculosis in the Americas: Regional Report 2012. Epidemiology, Control and Financing. Washington, DC : PAHO, 2013.70p.

Park YK, Bai GH, Kim SJ. Restriction length polymorphism analysis of M. tuberculosis isolated from countries in the Western Pacific Region. J Clin Microbiol. 2000; 38: 191-7.

Perizzolo PF, Costa ERD, Ribeiro AW, Spies FS, Ribeiro MO, Dias CF, Unis G, Silva PA, Gomes HM, Suffys PN, Rossetti MLR. Characteristics of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis in southern Brazil. Tuberculosis 2012, (92): 56-59.

Pontali E, Sotgiu G, Migliori GB. Management of MDR-TB household contacts: how diffi cult is it to climb the mountain? Int J Tuberc Lung Dis. 2011; 15 (9): 1137–8.

Pottathil S, Anroop N, Varsha S, et al. Evaluation of rapid techniques for the detection of mycobacteria in sputum with scanty bacilli or clinically evident, smear negative cases of pulmonary and extra-pulmonary tuberculosis. Mem. Inst Oswaldo Cruz 2011; 106 : 620 – 4.

Ramsay A, Steingart KR, Pai M. Assessing the impact of new diagnostics on tuberculosis control. Int J Tuberc Lung Dis. 2010, 14(12): 1506-7.

Reis-Santos B, Gomes T, Locatelli R, de Oliveira ER, Sanchez MN, et al. Treatment Outcomes in Tuberculosis Patients with Diabetes: A Polytomous Analysis Using Brazilian Surveillance System. PLoS ONE 2014; 9(7): 1-9.

Rieder, H. Epidemiologic basis of tuberculosis control. Paris: International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. 1999.

Rossetti MLR, Valim ARM, Silva MSN, Rodrigues VS. Tuberculose resistente: revisão molecular. Rer Saúde Pública 2002; 36 (4): 525-32.

Rozman LM, Santo AH, Rozman MA. Resistência do *Mycobacterium tuberculosis* às drogas em pacientes HIV+ em cinco municípios da Baixada Santista, São Paulo, Brasil. Cad Saude Publica 2007;23(5):1051-9.

Santos LC, Bousquet HM, Pereira AM, Junqueira-Kipnis AP, Kipnis A. A high prevalence of resistance in new tuberculosis cases of midwestern Brazil. Infect Genet Evol. 2010; 10 (7):1052-7.

Santos. Secretaria Municipal de Saúde. Unidades de Saúde. 2011. [citado set. 2012]. Disponível em: www.santos.sp.gov.br

Santos. Secretaria Municipal de Desenvolvimento Urbano. Grupo Técnico de Trabalho do Plano Diretor de Desenvolvimento e Expansão Urbana. Revisão do Plano Diretor de Desenvolvimento e Expansão Urbana do Município de Santos - Lei Complementar N° 731, de 11 de julho de 2011. Diagnóstico consolidado. 2013. [citado out.2014]. Disponível em: <http://www.santos.sp.gov.br/sites/default/files/conteudo/Diagn%C3%B3stico%20Consolidado%20Revis%C3%A3o%20Plano%20Diretor%20Santos.pdf>

Santos, Dinamara Barreto dos. Diabetes mellitus referido e fatores sociodemográficos, clínicos e epidemiológicos em pacientes adultos com tuberculose. 2013. 91f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Tuberculose no Estado de São Paulo: Indicadores de Morbimortalidade e Indicadores de Desempenho. Bol Epidemiol Paulista 2006; 3: 37 (Supl 4). [citado fev 2009] Disponível em: http://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/outros/BEPA_TBSUPLE4V3.pdf

São Paulo. Secretaria de Estado de Economia e Planejamento. Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados 2010. Informações dos Municípios Paulistas. [citado abr 2013] Disponível em: <http://www.iprsipvs.seade.gov.br/view/index.php?prodCod=1>

São Paulo. Secretaria de Estado de Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Sala de situação de Tuberculose. Encerramento dos casos residentes – Município de Santos. 2012. [citado jul 2013] <http://tuberculosesp.cealag.com.br> Accessed September 2012.

Small PM, Hopewell PC, Singh SP, Paz A, Parsonnet J, Ruston DC, et al. The epidemiology of tuberculosis in San Francisco: a population-based study using conventional and molecular methods. N Engl J Med 1994; 330:1703-9.

Sotgiu G, Ferrara G, Matteelli A, Richardson MD, Centis R, Ruesch-Gerdes S, Tounghousova O, Zellweger JP, Spanevello A, Cirillo D, Lange C, Migliori GB. Epidemiology and clinical management of XDR-TB: a systematic review by TBNET. Eur Respir J. 2009; 33: 871-81.

Spellman CW, Matty JK, Weis SE. A survey of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis and its relationship with HIV infection. AIDS 1998; 12:191-5.

Shah NS, Wright A, Ban Gill-Han, Barrera L, Boulahbal F, Casabona N M et al. Worldwide Emergence of Extensively Drug-resistant Tuberculosis. Emerging Infectious Diseases 2007; 13 (3): 380-387.

Stevenson CR, Forouhi NG, Roglic G, Williams BG, Lauer JA, Chirstopher D, Unwin N. Diabetes and tuberculosis: the impact of the diabetes epidemic on tuberculosis incidence. BMC Public Health 2007; 7: 234.

Suchindran S, Brouwer ES, Van Rie A. Is HIV Infection a Risk Factor for Multi-Drug Resistant Tuberculosis? A Systematic Review. PloS ONE 2009; 4(5): 1-9

Teixeira GM. XDR-TB – uma grave e emergente ameaça à saúde pública. Rev Bras Pneumol Sanit 2007; 15(1): 3-6.

Telles MAS, Ferrazoli L, Waldman EA, Giampaglia CMS, Martins MC, Ueki SYM, Chimara E, Silva CA, Cruz V, Walkman CCS, Heyn I, Uehara Hirono I, Riley LW. A population – based study of drug resistance and transmission of tuberculosis in an urban community. Int J Tuberc Lung Dis 2005; 9(9): 1-7.

Teo J, Jureen R, Chiang D, Chan D, Lin R. Comparison of two nucleic acid amplification assays, the Xpert MTB/RIF and the amplified Mycobacterium tuberculosis direct assay, for detection of Mycobacterium tuberculosis in respiratory and nonrespiratory specimens. J Clin Microbiol. 2011; 49 (10):3659-62.

Thierry D, Brisson-Noel A, Vincent-Lévy-Frébault V, Nguyen S, Guesdon JL, Gicquel B, et al. Characterization of a *Mycobacterium tuberculosis* insertion sequence, IS6110, and its application in diagnosis. J Clin Microbiol 1990; 28:2668-73.

van Embden JD, Cave DT, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B, Hermans P, Martin C, McAdam R, Shinnick TM, Small PM. Strain identification of Mycobacterium tuberculosis by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. J. Clin. Microbiol. 1993; 31: 406–9.

Vilarica AS, Gomes C, Pina P. Comparative analysis of multidrug-resistant tuberculosis and extensively drug-resistant tuberculosis – Epidemiology and predictive factors. Rev Portuguesa de Pneumol. 2008; 15(6): 829-42.

World Diabetes Foundation/WDF. Addressing the burdens of diabetes and TB in the Americas WDF10-530: Brazil, Mexico. 2013. [citado junho 2014]. Disponível em: <<http://www.worlddiabetesfoundation.org/projects/brazil-mexico-wdf10-530>>

World Health Organization. Reporto f the meeting of the WHO Global Task Force on XDR – TB. Geneva: WHO, 2006.

World Health Organization. Use of liquid Tb culture and Drugs Susceptibility Testing (DST) in Low and Medium Income Settings. Geneva: WHO, 2007.

World Health Organization. Policy Guidance on Drug-Susceptibility Testing (DST) of Second-Line Antituberculosis Drugs. Geneva, Switzerland: WHO, 2008. [citado setem. 2013]. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/hq/2008/WHO_HTM_TB_2008.392_eng.pdf>

World Health Organization. Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis. 4th ed. Geneva, Switzerland: WHO, 2009.

World Health Organization. Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB): 2010 Global Report on Surveillance and Response. Geneva: WHO/MDR, 2010.

World Health Organization. Global tuberculosis report 2013. Geneva: WHO, 2013a.

World Health Organization. Definitions and Reporting Framework for Tuberculosis – 2013 Revision. Geneva: WHO; 2013b.

World Health Organization. 10 facts about diabetes. 2013c. [citado mar. 2013]. Disponível em: <<http://www.who.int/features/factfiles/diabetes/en/index.html>>

Wright A, Zignol M, Deun Van A, Falzon D, Gerdes SR et al. Epidemiology of antituberculosis drug resistance 2002–07: an updated analysis of the Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance. *The Lancet* 2009; 373: 1861- 73.

Zignol M, Hosseini MS, Wright A, Weezenbeek CL, Nunn P, Watt CJ, Williams BG, Dye C. Global incidence of multidrug-resistant tuberculosis. *Infect Dis.* 2006; 194(4):479-85.

Zignol M, Gemert W, Falzon D, Jaramillo E, Blanc L, Raviglione M. Modernizing Surveillance of Antituberculosis Drug Resistance: From Special Surveys to Routine Testing. *CID* 2011; 52: 901-6.

Zumla A, Abubakar I, Raviglione M, et al. Drug-Resistant Tuberculosis - Current Dilemmas, Unanswered Questions, Challenges, and Priority Needs. *The Journal of Infectious Diseases* 2012; 205 (S2):228–40.