

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação Em Medicina: Ciências Médicas

**TUBERCULOSE EM PACIENTES COM SÍNDROME DE
IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA: ANÁLISE DO PERFIL DE
SUSCETIBILIDADE AOS TUBERCULOSTÁTICOS**

CAROLINE DEUTSCHENDORF

Orientador: Prof. Luciano Zubaran Goldani

Dissertação de Mestrado

2010

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação Em Medicina: Ciências Médicas

TUBERCULOSE EM PACIENTES COM SÍNDROME DE IMUNODEFICIÊNCIA
ADQUIRIDA: ANÁLISE DO PERFIL DE SUSCETIBILIDADE AOS
TUBERCULOSTÁTICOS

CAROLINE DEUTSCHENDORF

Orientador: Prof. Luciano Zubaran Goldani

Dissertação de Mestrado

2010

FICHA CATALOGRÁFICA

D485t **Deutschendorf, Caroline**

Tuberculose em pacientes com síndrome de imunodeficiência adquirida : análise do perfil de suscetibilidade aos tuberculostáticos / Caroline Deutschendorf ; orient. Luciano Zubaran Goldani. – 2010.
52 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre, BR-RS, 2010.

1. Tuberculose resistente a múltiplos medicamentos 2. Síndrome de imunodeficiência adquirida 3. Farmacorresistência bacteriana 4. Quinolonas 5. Antituberculosos I. Goldani, Luciano Zubaran II. Título.

NLM: WF 360

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

AGRADECIMENTOS

Ao meu amor, Wagner, pelo companheirismo, estímulo e dedicação em todos os momentos.

Aos meus pais, por sempre investirem na minha educação e serem grandes exemplos em minha vida. A toda minha família pela paciência com minha freqüente ausência.

A minha irmã, por estar sempre ao meu lado.

Ao meu orientador, Prof Luciano Goldani, pelo conhecimento transmitido, pelo crédito e oportunidade.

Ao co-orientador Rodrigo Pires dos Santos, pela amizade, grande auxílio, dedicação e estímulo para a execução deste trabalho.

Aos colegas do Hospital Nossa Senhora da Conceição pelo apoio e amizade, em especial a Dimas Kliemman pelos valiosos conselhos e amizade.

Aos funcionários do SAMIS do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela colaboração, eficiência e simpatia de sempre.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao grupo de pós-graduação. Especialmente aos professores do pós-graduação pelo exemplo e conhecimento transmitido.

SUMÁRIO

1	LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	6
2	LISTA DE FIGURAS.....	7
3	RESUMO DA DISSERTAÇÃO	
	4.1 Resumo em Português.....	8
	4.2 Abstract (Resumo em Inglês)	10
4	INTRODUÇÃO.....	12
5	REVISÃO DA LITERATURA	
	5.1 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> e resistência	
	5.1.1 Histórico.....	14
	5.1.2 Epidemiologia.....	15
	5.1.3 Mecanismos de Ação e Resistência.....	18
	5.1.4 Diagnóstico	21
	5.1.5 Fatores de Risco & Infecção pelo HIV.....	23
	5.1.6 Tratamento.....	27
6	JUSTIFICATIVA DO ESTUDO.....	32
7	OBJETIVOS GERAIS.....	33
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
9	ARTIGO.....	40
	9.1 Artigo 1 – Previous use of quinolones as a surrogate marker for first line anti-tuberculosis drug resistance	
10	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	50
11	ANEXOS.....	51
	11.1 Instrumento de coleta de dados.....	51
	11.2 termo de compromisso para utilização dos dados.....	52

1 LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS – síndrome da imunodeficiência humana

BCG – Bacilo de Calmette-Guérin

CDC – Center of Disease Control

DOTS - directly observed treatment short course/tratamento de curta duração diretamente observado

EMB - etambutol

ETH - etionamida

FQN - fluoroquinolona

HIV – vírus da imunodeficiência humana

INH - isoniazida

LACEN-RS - Laboratório Central do Rio Grande do Sul

MDR – multirresistência

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAS – ácido para-aminosalicílico

PNCT - Programa Nacional de Controle da Tuberculose

RMP - rifampicina

SM - estreptomicina

TB - tuberculose

TDR – total resistência

TSD – teste de sensibilidade as drogas

XDR – superresistência

2 LISTA DE FIGURAS

Pág 16 - Figura 1: Prevalência de tuberculose MDR entre os casos novos no ano de 2007 e países com pelo menos 1 caso relatado de tuberculose XDR até dezembro de 2008 (OMS).

Pág 18 - Figura 2: Sítios de ação das principais drogas antiTB (adaptado de *Infect Dis Clin North Amer* (1997);11(4): 905-928).

3 RESUMO DA DISSERTAÇÃO

3.1 Resumo em Português

Base teórica: Tuberculose (TB) e infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) são as principais causas de mortalidade relacionada a doenças infecciosas no mundo. A associação de TB com HIV e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) adicionou morbidade e mortalidade a cada uma das pandemias; ambas expuseram as fragilidades dos sistemas de saúde pública e dos sistemas médicos e sociais, assim como disparidades em recursos e direitos sociais. A estratégia para controle da tuberculose consiste em diagnóstico e tratamento rápidos para interromper a cadeia de transmissão da doença e obter desfechos favoráveis. Apesar disso, situações como monoterapia, prescrição inadequada e má adesão levam a emergência de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes. A resistência às drogas anti-TB foi descrita logo após a introdução da estreptomicina em 1944 e, atualmente, é a maior ameaça ao controle da tuberculose. Cepas resistentes causam maiores taxas de mortalidade, falha e recidiva, e o tratamento é mais tóxico, caro e prolongado.

Objetivos: Determinar o padrão de resistência do *M. tuberculosis* isolado em pacientes HIV-positivos e os fatores de risco a ela associados.

Métodos: Através de um estudo retrospectivo de coorte revisaram-se os prontuários de todos os pacientes com HIV/AIDS e tuberculose do Hospital de Clínicas de Porto Alegre entre 2000 e 2005.

Resultados: Foram incluídos 236 pacientes, selecionados a partir de dados do laboratório de microbiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Resistência a pelo menos uma das drogas anti-TB foi detectada em 28 isolados (13,6%). Multirresistência (MDR), ou seja, resistência a pelo menos isoniazida e rifampicina, ocorreu em quatro (1,9%) pacientes. Uso prévio de quinolonas (por pelo menos cinco dias nos últimos 6 meses) foi relacionado com resistência à rifampicina (OR 16,54; IC95% 2,15 a 125,21; P<0,001), à

isoniazida (OR 3,94; IC95% 1,02 a 15,79; P=0,04), à estreptomicina (OR 4,3; IC95% 1,06 a 17,11; P=0,02), ao etambutol (OR 33,27; IC95% 2,82 a 387,61; P<0,001) e à TB MDR (OR 16,15; IC95% 2,1 a 124; P<0,001), mas não com resistência à pirazinamida (OR 2,66; IC95% 0,29 a 23,57; P=0,36). Na análise multivariada, tratamento prévio com rifampicina, isoniazida, estreptomicina ou quinolona se relacionou com resistência a qualquer droga. Tratamentos contendo rifampicina foram protetores para mortalidade intra-hospitalar (OR 0,18; IC95% 0,02 to 1,01; P=0,02).

Conclusão: Atualmente não há evidência de resistência cruzada entre quinolonas e outras drogas utilizadas no tratamento da tuberculose. Apesar disso, em nosso estudo, houve correlação entre uso prévio de quinolonas e resistência a drogas de primeira linha para tratamento da TB. Com isso, o uso de quinolonas em áreas de alta endemicidade da tuberculose deve ser evitado.

3.2 Abstract (Resumo em Inglês)

Background: Tuberculosis (TB) and human immunodeficiency virus (HIV) disease are the two leading causes of infectious disease-associated mortality worldwide. The harmful interaction of TB and HIV/AIDS has added greatly to the suffering and loss of life caused by each pandemic; together, the diseases expose underlying weakness in public health, medical, and social systems, as well as disparities in resources and human rights. The strategies to control tuberculosis consist in diagnosis and treatment as fast as possible to interrupt the transmission of the disease and to provide better outcomes. Even though, situations like monotherapy, bad prescription or lack of compliance lead to emergence of resistant *M. tuberculosis*. Resistance to antituberculosis drugs was first described soon after the introduction of streptomycin in 1944 and is currently one of the most important threats to global tuberculosis control. Drug resistant strains cause much higher rates of mortality, failure and relapse, and treatment is more toxic, expensive and lengthy.

Objectives: This study was performed to determine the resistance profile of *M. tuberculosis* isolated from HIV-infected patients and factors that could be associated with resistance in southern Brazil.

Methods: A retrospective cohort study was conducted at Hospital de Clínicas de Porto Alegre. From august 2000 to august 2005 all patients with the diagnosis of HIV infection and tuberculosis were included.

Results: Tuberculosis was diagnosed in 236 patients. Resistance to at least one drug was seen in 28 (13.6%) isolates. Multi-drug resistance (resistance to isoniazid and rifampin) tuberculosis was seen in 4 (1.9%) isolates. Previous treatment with quinolones was related to resistance to rifampin (OR 16.54; CI 95% 2.15 to 125.21), to isoniazid (OR 3.94; CI 95% 1.02 to 15.79), to streptomycin (OR 4.3; CI 95% 1.06 to 17.11), to ethambutol (OR 33.27; CI 95% 2.82 to 387.61) and to multidrug-resistance (OR 16.15; CI 95% 2.1 to 124.0), but not with resistance to pyrazinamide (OR 2.66; CI 95% 0.29 to 23.57). In multivariate analysis, risk factors for any drug resistance were: previous

rifampicin ($P < 0.001$), isoniazid ($P < 0.001$) and streptomycin ($P < 0.001$) use. Previous quinolone use was also related to any drug resistance ($P = 0.006$). Treatments containing rifampin were protective for in-hospital all-cause mortality rate (OR 0.18; CI 95% 0.02 to 1.01; $P = 0.02$).

Conclusion: So far, there is no evidence of cross-resistance between quinolones and anti-TB agents. The quinolones and first line TB drugs do not share similar mechanisms of resistance and there is lack of data referring to this cause-effect relation. Although, we found a correlation between previous use of quinolones and first-line TB drugs resistance and we believe that quinolones should not be used as first-line antibiotics to treat pneumonia in settings where TB is endemic.

4 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que aproximadamente 13 milhões de pessoas estejam infectadas pelo *Mycobacterium tuberculosis* no mundo, e, destes casos, 8,8 milhões de pessoas desenvolvam doença, com 1,7 milhão de mortes anualmente. Em torno de 8% dos casos de tuberculose (TB) no mundo ocorrem em pacientes co-infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). [1,2]

Em pacientes infectados pelo HIV o risco de desenvolvimento da tuberculose duplica logo após a soroconversão, e continua a aumentar com a progressão da imunossupressão. O diagnóstico da TB em HIV-positivos requer um alto índice de suspeita clínica e um extenso conhecimento do grande espectro de manifestações da doença. Na infecção recente pelo HIV, a tuberculose pode ser indistinguível da infecção em imunocompetentes; porém, com a deterioração do sistema imunológico, a doença extra-pulmonar se torna mais comum e a tuberculose disseminada aumenta sua incidência com baixos níveis de células CD4. A reação de Mantoux negativa, infecções oportunistas prévias e baixos níveis de CD4 são associados com o aumento da mortalidade, demonstrando que o grau de imunossupressão é o fator preditor mais importante da sobrevida dos pacientes HIV-positivos com tuberculose. Há evidências epidemiológicas de que estes pacientes têm maiores contagens de carga viral e morrem mais cedo do que aqueles sem tuberculose. [3-5]

Programas governamentais elaboram estratégias de controle da tuberculose que consistem, basicamente, em diagnosticar e tratar os casos de TB o mais rapidamente possível, a fim de interromper a transmissão e evitar a difusão da doença. Os agentes mais efetivos na destruição do *M. tuberculosis* são a isoniazida, a pirazinamida e a rifampicina, que compõem a base dos regimes modernos de tratamento da doença. [6-9]

A resistência a uma ou mais drogas anti-TB é um problema mundial, com grandes variações regionais. Achados clínicos e radiográficos são iguais aos dos indivíduos infectados por bacilos multissensíveis, mas alguns fatores devem aumentar a suspeita de algum grau de resistência do bacilo, como: tratamento prévio para TB ativa, falha ou recidiva da infecção em pacientes HIV-positivos, contato com caso de TB resistente, falha da resposta a

tratamento empírico (desde que adesão ao tratamento tenha sido comprovada). [10]

Idealmente, o tratamento da tuberculose para cada paciente deveria ser baseado no teste de suscetibilidade às drogas anti-TB, mas onde esta estratégia não pode ser alcançada, o tratamento empírico deve ser administrado conforme os padrões de resistência do bacilo predominantes em cada região. A emergência do *M. tuberculosis* resistente a agentes anti-TB, embora não seja um problema novo, recebeu maior atenção atualmente devido ao maior número de evidências sugerindo associação entre multirresistência e infecção pelo HIV. [2,5,11,12]

5 REVISÃO DA LITERATURA

5.1 *Mycobacterium tuberculosis* e Resistência

5.1.1 Histórico

Os membros modernos do complexo *M. tuberculosis* têm um ancestral comum africano com origem há 15 000 a 35 000 anos atrás. No Egito e no Peru há evidência arqueológica de tuberculose óssea e há textos descrevendo a tuberculose de 3 300 anos atrás na Índia e de 2 300 anos atrás na China. Avanços no conhecimento sobre a tuberculose começaram com René Théophile Hyacinthe Laennec, que descreveu a patogênese e os sinais clínicos da doença em 1819; nesta época havia grande epidemia de TB na Europa, com taxas de mortalidade de 800 a 1 000/100 000 habitantes. Benjamin Marten foi o primeiro a sugerir que a tuberculose era uma doença infecciosa, em 1870.

Em 24 de março de 1884, Hermann Heinrich Robert Koch descreveu, em sua apresentação “*Die Aetiologie der Tuberculose*”, além de seus famosos postulados, o bacilo da tuberculose, mudando drasticamente a história da doença. Koch também descreveu, em 1890, uma substância que acreditava conter o bacilo da tuberculose sem danos ao corpo humano - a tuberculina - até hoje utilizada para diagnóstico, não como terapia, já que não se mostrou eficaz para tal. Em 1859 foi criado o primeiro sanatório para o tratamento da TB; nele, a terapia era baseada em descanso, dieta rica e exercícios supervisionados. O primeiro pneumotórax terapêutico de sucesso foi relatado em 1834 e o paciente foi considerado curado. A toracoplastia, procedimento que consistia na modificação da estrutura da caixa torácica pela ressecção de uma ou várias costelas, foi introduzida pelo cirurgião suíço De Céréville, e, em 1951, foi publicada uma série de 100 pacientes com relato de cura de 63%.

Uma abordagem mais direta ao problema de saúde pública foi a criação, por Albert Calmette e Camilla Guérin, da vacina BCG (Bacille Calmette-Guérin) em 1921. Diversas campanhas públicas para controle da tuberculose se seguiram.

A descoberta do ácido para-aminosalicílico (PAS) e do tiosemicarbazone, em 1943 e 1945 respectivamente, deram início a era de

tratamento da tuberculose com agentes terapêuticos, mas ambos eram apenas bacteriostáticos. Em 1944, Albert Schatz, Elizabeth Bugie e Selman Waksman reportaram a descoberta da estreptomicina (SM), o primeiro antibiótico e o primeiro agente bactericida efetivo contra o *M. tuberculosis*. Isoniazida (INH), o primeiro agente oral micobactericida, surgiu em 1952 e, em 1957, surgiram as rifamicinas. [13]

Embora houvesse muito entusiasmo com o surgimento da estreptomicina, em poucos anos emergiu o problema da resistência, devido à monoterapia. [14] Terapias de curta duração com múltiplas drogas se desenvolveram nas décadas de 60 e 70 e foram efetivas no tratamento da TB, inclusive em pacientes com cepas demonstrando monorresistência. [15] Durante a década de 80, começaram a surgir os primeiros casos de *M. tuberculosis* multirresistentes nos Estados Unidos, provavelmente devido ao aumento de casos relacionados ao surgimento da epidemia de HIV/AIDS e a piora das condições sociais e econômicas. [16] Entre 1982 e 1986 houve um aumento significativo nos casos de tuberculose multirresistente (MDR), definida como resistência a rifampicina (RMP) e isoniazida juntas. Também há relatos de surtos nosocomiais de tuberculose MDR na década de 90. [17,18] Em 2006, a tuberculose extensamente resistente (XDR) foi definida como TB MDR somada à resistência a três das seis classes que compõem as drogas de segunda linha para tratamento da tuberculose (aminoglicosídeos, polipeptídeos, fluoroquinolonas, tioamidas, cicloserinas e ácido para-aminosalicílico). Posteriormente, esta definição foi mudada para isolados de *M. tuberculosis* resistentes a rifampicina e isoniazida associada à resistência a qualquer fluoroquinolona e a pelo menos uma das três drogas injetáveis de segunda linha (amicacina, canamicina ou capreomicina). [14,19] O problema da resistência vem evoluindo permanentemente, constituindo-se no maior problema para controle mundial da tuberculose e, atualmente, há casos de total resistência (TB TDR), com resistência a todas as drogas de primeira e segunda linha. [20]

5.1.2 Epidemiologia

De acordo com dados da OMS publicados em 2009, estima-se que houve 9,27 milhões de novos casos de tuberculose no mundo, com 1,32 milhões de óbitos em pacientes sem co-infecção pelo HIV e 456 000 óbitos em co-infectados, no ano de 2007. Vinte e dois países respondem por aproximadamente 80% de todos os casos de TB no mundo; destes, os países de maior prevalência são a Índia, China, Indonésia, Nigéria e África do Sul. Setenta e nove por cento dos 1,37 milhões de casos estimados de tuberculose em pacientes HIV-positivos estão no continente africano e 11% deles estão no sudeste asiático. Há estimativa de aproximadamente 500 000 casos de TB com multirresistência em 2007, com 289 000 novos casos; 55 países reportaram casos de TB extensamente resistente até o fim de 2008. O número de casos de TB MDR parece estar declinando, ao mesmo tempo em que casos de TB XDR parecem estar aumentando. [20]

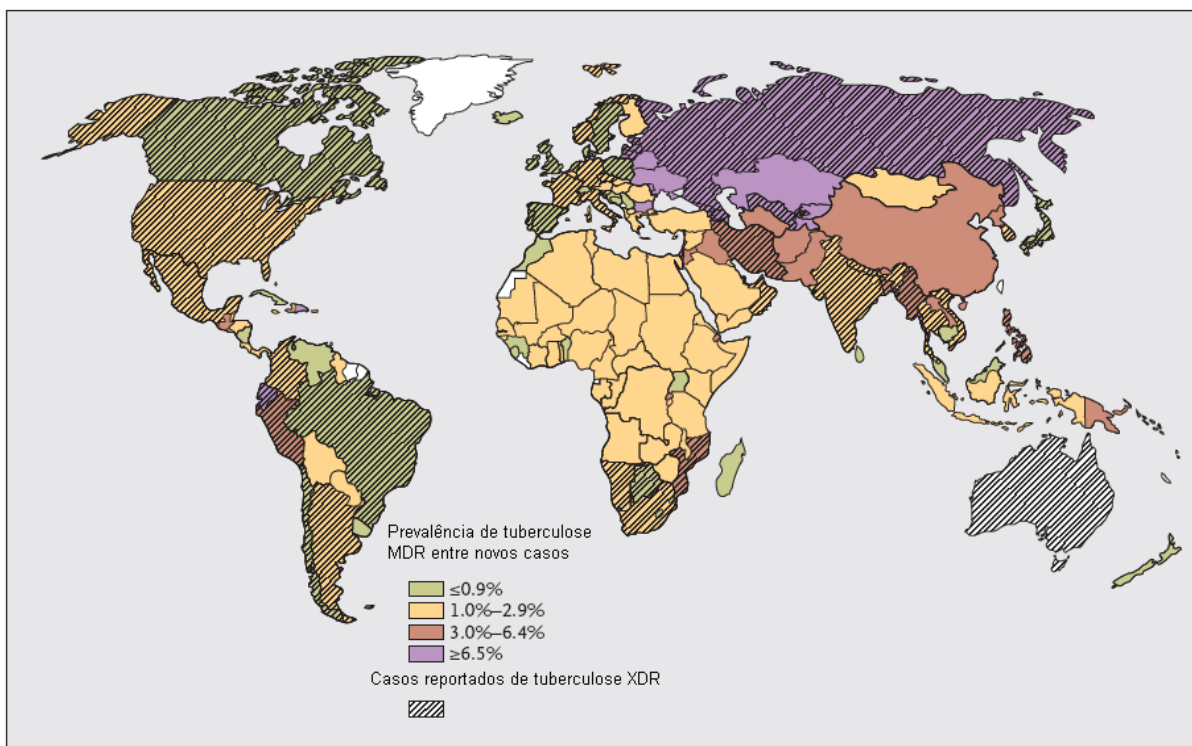


Figura 1: Prevalência de tuberculose MDR entre os casos novos no ano de 2007 e países com pelo menos um caso relatado de tuberculose XDR até dezembro de 2008 (OMS).

Dados de resistência variam bastante entre as regiões do mundo, como mostrado na figura acima. O Leste Europeu apresenta altas taxas de resistência do *M. tuberculosis*. No estudo de Pardini e colaboradores, realizado na Georgia, contabilizando 366 pacientes com tuberculose, 60,4% destes mostravam resistência a qualquer uma das drogas de primeira linha anti-TB e 21% apresentavam TB MDR. [21] Em estudo realizado na Tanzânia foram analisados 191 isolados – resistência a qualquer droga de primeira linha foi constatada em 5% dos casos e TB MDR em 0,4% dos casos; 47% destes pacientes eram co-infectados pelo HIV. [22] Dados do Marrocos mostram 33% de 199 isolados de *M. tuberculosis* resistentes a isoniazida e 30% deles com multirresistência; além de 29,1% de prevalência de resistência a estreptomicina e 13,1% de resistência ao etambutol (EMB). [23] Em estudo no Irã, foram analisadas 105 cepas de pacientes sem tratamento prévio para tuberculose; a taxa de resistência primária a qualquer droga de primeira linha foi de 29,5%; a prevalência de TB MDR nesta análise foi de 0,95%. [24] Embora sejam reportadas séries de casos de TB XDR na Europa, Ásia e América do Sul, o maior número de pacientes se concentra em KwaZulu Natal, na África do Sul. [25] Nesta localidade, 53 de 1539 pacientes apresentaram diagnóstico de TB XDR em estudo realizado de janeiro de 2005 a março de 2006, e 52 deles morreram em média 16 dias após o início do tratamento. Destes, todos os pacientes testados para infecção pelo vírus do HIV (N=44) eram co-infectados. [26]

Estudo realizado no Irã em 2009, com análise da sensibilidade a drogas de primeira e segunda linha anti-TB, de 146 isolados identificados com TB MDR, oito isolados (5,4%) tinham critérios para XDR e quinze (10,3%) apresentaram TB TDR, considerado como tendo resistência a todas as drogas de segunda linha para tratamento da tuberculose, situação extremamente alarmante. [27]

No Brasil, em uma comparação das taxas de resistência primária do *M. tuberculosis* entre pacientes tratados com terapia anti-TB diária convencional e aqueles com tratamento diário por um mês seguidos por regime intermitente até o fim do tratamento, não houve diferença entre os grupos, com taxas de resistência a qualquer droga de 9,3% e 9,2%, respectivamente, e taxas de TB MDR de 1,2% e 1%. [28] Estudo no Rio de Janeiro com dados de 2001 a 2005

mostrou prevalência de co-infecção com HIV de 31,2%. Resistência a qualquer droga foi achada em 15,7% dos casos e TB MDR em 4,3% dos casos, de 350 pacientes no total. [29] Estudo realizado em Bauru/SP, de 1996 a 1999, com análise de 57 isolados de *M. tuberculosis*, demonstraram 42,6% de resistência a qualquer droga anti-TB de primeira linha e 13% de TB MDR. Quarenta e três por cento destes pacientes eram HIV-positivos. [30]

Cento e setenta isolados analisados no Laboratório Central do Rio Grande do Sul (LACEN-RS) de 1993-95 mostraram resistência a pelo menos uma das drogas de primeira linha em 34% dos isolados. Entre pacientes HIV-positivos a taxa de resistência foi de 27% e a taxa de TB MDR foi de 17%. [31] No estudo de Wolfart e colaboradores, foi feita análise de sensibilidade a drogas de primeira linha para o tratamento da tuberculose em pacientes HIV-positivos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em 398 isolados de *M. tuberculosis*; resistência a uma ou mais drogas foi identificada em 71 isolados (17,8%), com maior resistência à isoniazida (9,9%). MDR TB foi encontrado em 8 isolados (2%), com maiores índices de resistência entre pacientes previamente tratados para tuberculose. [32]

5.1.3 Mecanismos de Ação e Resistência

Aspectos únicos na parede celular micobacteriana incluem o arabinogalactano, polissacarídeo complexo com ligação covalente ao peptidoglicano, e uma espessa camada lipídica, primariamente composta por ácidos micólicos, ligada covalentemente ao arabinogalactano. Poucas ligações duplas estão presentes nas cadeias de ácido micólicos, resultando em uma camada hidrofóbica que é eficiente barreira contra a penetração de nutrientes hidrofílicos e antibióticos. Estas características da parede celular micobacteriana são exploradas no uso de agentes como a isoniazida, etionamida (ETH) e etambutol, com ação nas enzimas envolvidas na biossíntese da parede celular e, por consequência, na sua integridade. Este mecanismo de ação também pode aumentar a penetração de outras drogas com alvos intracelulares, como a estreptomicina e rifampicina. [16]

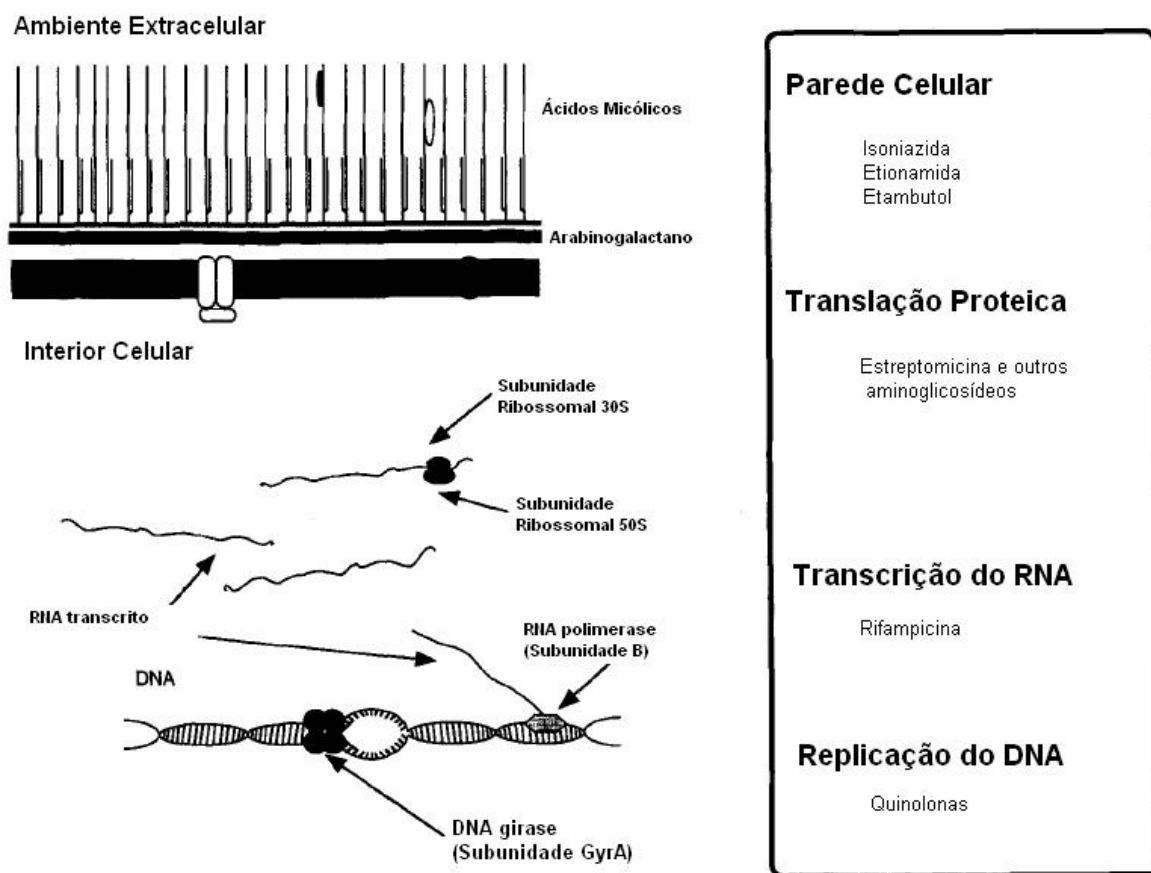


Figura 2: Sítios de ação das principais drogas antiTB (adaptado de *Infect Dis Clin North Amer* 1997;11: 905-928).

A isoniazida requer ativação por uma catalase-peroxidase micobacteriana decodificada pelo gene *katG*, para que tenha ação sobre a biossíntese do ácido micólico e outras ações micobactericidas. Mutações no sistema catalase-peroxidase levam a alto nível de resistência a esta droga; as mutações em *katG* e *inhA* são responsáveis por aproximadamente 70-80% das cepas resistentes a INH. [16, 18, 33, 34] Mutações na região promotora do gene *ahpC* sempre são encontradas em associação a mutações no *katG*, o que leva a crer que a primeira pode ser usada como marcador para a ocorrência da segunda. [35] Mutações no gene *ndh* conferem também resistência a isoniazida, e mutações no *KasA* podem estar relacionadas com baixos graus de resistência. [18]

A rifampicina é um derivado semissintético da rifamicina B. Sua ação se dá através do bloqueio da transcrição da RNA-polimerase dependente do DNA, sendo bactericida na fase de replicação rápida e na fase estacionária da

doença. [16,34] Análise de amostras clínicas de *M. tuberculosis* resistentes a rifampicina mostrou prevalência de 95-98% de mutações no gene *rpoB*. Esta é a melhor correlação que se tem entre resistência fenotípica e genotípica no *M. tuberculosis*. [35]

Apesar da importância da pirazinamida no tratamento da tuberculose, o seu mecanismo de ação é o menos compreendido. [34] A pirazinamida, assim como a isoniazida, é uma pró-droga que requer ativação, via enzima pirazinamidase/nicotinamidase, ao ácido pirazinóico. Ela tem atividade altamente específica contra *M. tuberculosis*, não exercendo qualquer efeito sobre as outras micobactérias. [18] Há correlação da mutação no gene *pncA* com a perda da atividade da pirazinamidase e consequente resistência micobacteriana. [35] Também há trabalhos correlacionando a ausência da atividade de uma amidase, as bombas de efluxo e os defeitos na captação da droga com a resistência. [36]

O mecanismo de ação e de resistência ao etambutol não é completamente compreendido. [34] Sabe-se que o EMB age inibindo a síntese do componente arabinogalactano da parede celular micobacteriana, através da ação do agrupamento de genes *embCAB*. A resistência ao EMB se desenvolve a partir da hiperexpressão destes genes ou mutação do gene *embB*. [35] No trabalho de Alland e colaboradores, foram testadas 1020 amostras clínicas com *M. tuberculosis* na tentativa de associar a mutação *emb306* a padrões de resistência; a *emb306* não causa resistência ao etambutol, mas predispõe a micobactéria ao desenvolvimento de resistência a vários antibióticos e aumenta a habilidade de transmissão da micobactéria resistente. [34]

Aminoglicosídeos agem na subunidade do ribossomo 30s, acarretando em uma interpretação errada do código genético e consequente inibição da iniciação da translação do RNAm. [16] A resistência a estreptomicina tem sido relacionada a mutações do locus *rpsL*, conferindo alto grau de resistência, ou do gene *rrs*, conferindo grau intermediário de resistência. [18,35]

As quinolonas bloqueiam a replicação, reparo e transcrição do DNA bacteriano através de interações com a DNA girase (topoisomerase II) e/ou topoisomerase IV. Ligando-se ao complexo formado por estas enzimas e o material genético, as quinolonas estabilizam a quebra das moléculas do DNA, levando à degradação dele e à morte bacteriana. [37] Mutações no gene *gyrA* e

gyrB, assim como bombas de efluxo e alterações na captação da droga, são responsáveis pela resistência aos fármacos desta classe. [16] A expressão do gene *mfpA* leva a baixo grau de resistência micobacteriana às quinolonas. [37] Não são conhecidos mecanismos que correlacionem a resistência às quinolonas à resistência a outras drogas anti-TB. [34]

5.1.4 Diagnóstico

A dificuldade na comprovação rápida do diagnóstico da TB e da suscetibilidade às drogas permanecem os maiores obstáculos para o controle da tuberculose no mundo. Nas regiões que abrigam a maior parte dos indivíduos infectados pela TB resistente, o diagnóstico ainda se dá apenas pela microscopia de escarro. Além disso, diagnóstico de tuberculose resistente através de cultura por meio sólido ou líquido e o teste de sensibilidade às drogas (TSD) levam em torno de 2 a 3 meses até o resultado final. No estudo de Gandhi e colaboradores, a maioria dos pacientes na devastadora epidemia de TB XDR nas áreas rurais da África morreu sem o resultado das culturas e do TSD. [26]

O diagnóstico precoce da tuberculose e da resistência melhoram a sobrevida e, por identificar casos transmissores, possibilita o rastreamento de contatos, a implementação de precauções institucionais e outras ações de saúde pública. Recomendações do Center of Disease Control (CDC) incluem protocolo laboratorial de detecção do *M. tuberculosis* por exame direto e cultura, e do teste de sensibilidade aos antibióticos. O exame direto com pesquisa do bacilo deve ser realizado em até 24h do recebimento do espécime clínico. Isolamento e identificação do complexo *M. tuberculosis* deve ocorrer entre 14 e 21 dias. Todo o processo, incluindo testes de suscetibilidade a drogas de primeira linha, deve ser completado em até 30 dias após o recebimento da amostra clínica pelo laboratório. [36]

A OMS e a União Internacional Contra a Tuberculose definiram três categorias de métodos para detecção de resistência micobacteriana: o método da concentração absoluta, o método da razão de resistência e o método de proporção.

No método de concentração absoluta, uma droga é incorporada aos meios de ágar sólido ou Lowenstein-Jensen e a resistência é definida a partir da menor concentração da droga que inibe o crescimento da micobactéria (< 20 colônias). [37,38] O método de razão da resistência consiste em um refinamento da técnica anterior, onde o isolado é testado em duas diferentes concentrações da droga e em dois meios sem a presença da droga e estes dois são comparados. Quando a razão da resistência é de 2 ou menos ou 8 ou mais, o isolado é totalmente suscetível ou totalmente resistente, respectivamente. [18,38] Níveis intermediários são difíceis de mensurar com acurácia. No método de proporção, a cepa é considerada suscetível à droga se sua população encontra-se abaixo de um nível crítico que indica resistência, na presença da droga. Somando-se a estes três métodos já aceitos, métodos automatizados, rápidos, não-radiométricos estão sendo utilizados para diagnóstico; esses sistemas utilizam uma modificação do método de proporção. [38,39]

As técnicas para diagnóstico rápido permitem: identificação precoce dos pacientes bacilíferos, reduzindo a transmissão da doença; identificação precoce dos pacientes com tuberculose resistente, particularmente com TB MDR; prevenção da emergência de tuberculose MDR com a identificação de resistência a uma única droga; isolamento dos pacientes com tuberculose resistente em quartos com pressão negativa, reduzindo, assim, o número de casos futuros; início rápido da terapia adequada, melhorando a sobrevida dos pacientes e reduzindo sua infectividade. [40]

Os métodos genotípicos procuram pelos determinantes genéticos de resistência e envolvem dois passos básicos: amplificação do ácido nucleico de seções do genoma micobacteriano sabidamente alteradas em cepas resistentes, e avaliação dos produtos da amplificação para mutações específicas correlacionadas com resistência. Métodos fenotípicos avaliam a inibição do crescimento do *M. tuberculosis* na presença dos antibióticos. [41] Novos métodos rápidos fenotípicos vêm sendo estudados, incluindo a utilização de marcadores moleculares, com a detecção de fluorescência como marcador de sensibilidade. Também há novos métodos com a utilização de micobacteriófagos como marcadores de resistência. [37,38]

Métodos genotípicos para diagnóstico da resistência têm a vantagem da execução em menor tempo, e de não haver necessidade de realização de cultura, além da possibilidade de aplicação em amostras clínicas, de menores riscos biológicos e da possibilidade de automação; no entanto, nem todos os mecanismos moleculares de resistência são conhecidos. Métodos fenotípicos são, em geral, de execução mais simples e, por isso, são mais próximos de implementação em larga escala nos laboratórios de microbiologia. [39,40] As informações insuficientes a respeito dos mecanismos de resistência são traduzidas nos seguintes resultados: embora os melhores sistemas genotípicos consigam prever resistência a rifampicina em até 90-95% dos casos, eles podem apresentar falhas na detecção de resistência à estreptomicina em 40% dos casos, à isoniazida em 10-15% dos casos e a ciprofloxacino em 25% dos casos. [38] A complexidade da resistência à pirazinamida torna o desenvolvimento de métodos moleculares para diagnóstico rápido extremamente difícil. Sabe-se que a monorresistência à isoniazida é comum, mas à rifampicina é rara; assim, é proposto que a resistência a rifampicina seja usada como marcador de TB MDR. [18]

5.1.5 Fatores de Risco

A resistência a drogas para tratamento da tuberculose emerge rapidamente com a monoterapia ou com pobre aderência – dentro destas condições, monorresistência a isoniazida aparece rapidamente. Na ausência da isoniazida, que é o agente micobactericida mais potente, o risco de resistência a rifampicina aumenta, já que nem a pirazinamida, o etambutol ou a estreptomicina são efetivos na prevenção do surgimento da resistência. Uma vez estabelecida a multirresistência, há pouco que possa ser feito para impedir o surgimento de resistência a outras classes. Progressão a TB XDR é uma questão de tempo. Como este processo se desenvolve ao longo de meses ou anos, o paciente se mantém bacilífero, transmitindo a micobactéria resistente, principalmente em comunidades onde há alta prevalência de infecção pelo HIV. [20]

Fatores associados ao surgimento da tuberculose resistente, atribuíveis a equipe de atendimento, incluem erros de prescrição, dose inadequada, falta de monitoramento da terapia, interações entre drogas anti-TB e agentes para tratamento das co-morbidades. Fatores associados aos sistemas de saúde incluem falta de funcionamento de programas para controle da tuberculose, falta de medicação e dificuldade no acesso ao serviço de saúde. Programas nacionais e globais que se baseiam apenas em diagnóstico por exame direto do escarro e não promovem o uso de culturas e TSD (recomendados apenas aos pacientes que não respondem ou recidivam após tratamento), também contribuem para o desenvolvimento de resistência na tuberculose. Estas políticas permitem que pacientes com tuberculose resistente a drogas anti-TB permaneçam sem ser reconhecidos, com terapia inadequada e manutenção da transmissão da doença. [42]

Em investigação de pacientes de Burkina Faso, realizada por Diandé e colaboradores, após análise multivariada, foram reconhecidos como fatores de risco para tuberculose multirresistente: contato prévio com tuberculose, tratamento prévio e residência fora de Burkina Faso por um longo período. [43] Em revisão sistemática realizada por Faustini e colaboradores para detecção de fatores de risco para TB MDR na Europa, tratamento prévio teve forte associação com resistência; não foi encontrada associação entre TB MDR e pacientes estrangeiros; idade acima de 65 anos também se correlacionou com multirresistência. [44] Em outro estudo, sexo feminino, residência em capital densamente populosa, contato familiar com tuberculose e tratamento prévio foram associados com TB MDR. [45] No trabalho de Kliiman e Altraja, os fatores de risco associados com TB XDR foram tratamento prévio para tuberculose, infecção pelo HIV, ser morador de rua e alcoolismo. Pacientes que receberam tratamento anti-TB previamente também apresentaram aumento em quatro vezes na razão de chance de contraírem TB MDR. Idade menor de 65 anos também foi correlacionada com resistência, com a principal faixa etária relacionada estando entre 25 a 44 anos. Em pacientes com menos de 25 anos, mulheres têm seis vezes mais chance de contraírem TB MDR; não está estabelecida a razão para tal associação, mas ela se torna importante a partir do momento que pode refletir aumento da tuberculose resistente entre as crianças. A associação entre tratamento prévio e TB XDR foi maior do que a

associação com TB MDR, mostrando que o tempo prévio de exposição a drogas anti-TB está diretamente associado à maior resistência. [46]

O tratamento antiretroviral se mostrou efetivo na redução da incidência da tuberculose em indivíduos HIV-positivos, mas o risco de desenvolvimento da doença ainda é muito maior do que em pacientes HIV-negativos. [47,48] Estudos realizados nos países da América do Norte mostraram associação entre infecção pelo HIV e TB MDR, mas nenhum estudo realizado na África demonstrou esta associação e resultados de outras regiões são conflitantes. Alguns resultados indicam que TB MDR primária, e não adquirida, é associada à infecção pelo HIV, e esta associação parece maior em pacientes com AIDS avançada. [49,50]

Mecanismos biológicos ligando TB resistente ao HIV são sugeridos; dentre eles, em especial malabsorção das drogas, principalmente rifampicina e etambutol, levam a resistência e conseqüente falha terapêutica. Outros fatores podem levar a tal associação: pacientes HIV-negativos tendem a reativar uma infecção latente de décadas atrás, enquanto pacientes HIV-positivos reativam a infecção adquirida recentemente seguindo a cadeia de transmissão da comunidade ou da instituição; como a prevalência de resistência a drogas anti-TB vem aumentando globalmente, uma maior porcentagem de infecções recentes podem ser MDR ou até XDR. Também, a associação entre infecção pelo HIV e resistência pode ser confundida por estes grupos compartilharem os mesmos fatores de risco, como o uso de drogas injetáveis, o perfil socioeconômico, o alcoolismo e a hospitalização. [49]

A tuberculose MDR/XDR tem grande efeito sobre a epidemia do HIV, com aumento da mortalidade; potencial morbidade pela toxicidade e interação das drogas; transmissão nosocomial da tuberculose resistente; risco aos profissionais de saúde responsáveis pelos pacientes HIV-positivos; tensão sobre os programas nacionais de controle da tuberculose; aumento da demanda para laboratórios e serviços especializados no tratamento; rivalidade por recursos entre programa de HIV e TB; aumento do estigma com pacientes co-infectados; inversão dos ganhos históricos com a terapia antiretroviral. [25]

Um modelo matemático recente demonstrou que 28% dos casos de TB XDR em Tugela Ferry poderiam ser evitados em cinco anos com uso consistente de máscaras e com redução no tempo de internação hospitalar;

48% dos casos entre todos os casos de TB XDR detectados poderiam ser evitados simplesmente por estabelecimento rápido de teste de sensibilidade as drogas, tratamento da infecção pelo HIV, isolamento adequado dos pacientes e melhora da ventilação nos quartos onde estes pacientes estariam. [24] Não há estudos demonstrando que os resultados do teste tuberculínico, de estudos radiológicos, de exames laboratoriais ou do exame de escarro possam prever resistência a drogas anti-TB. [42]

Estudos mostram que o uso empírico de fluoroquinolona (FQN) no tratamento de pacientes com tuberculose que inicialmente apresentam-se com quadro clínico de pneumonia comunitária é associado com melhora temporária dos sintomas pulmonares e sistêmicos, levando também a atraso no diagnóstico e infectividade prolongada, sendo associado a maior morbidade e mortalidade, tanto em pacientes HIV-negativos quanto em HIV-positivos. [51-54] O uso prévio de fluoroquinolonas também foi associado com tendência a maior tempo de crescimento em cultura da micobactéria, embora não fosse demonstrada diferença estatística entre os grupos. [55]

Isolados de *M. tuberculosis* multirresistentes também resistentes a FQN estão independentemente associados com falha terapêutica e maior mortalidade; além disso, resistência a qualquer FQN prediz resistência a toda a classe. Uso indiscriminado e, frequentemente, inapropriado das fluoroquinolonas para tratamento de várias infecções resultam em resistência primária do *M. tuberculosis* a esta classe, limitando as opções terapêuticas no tratamento da TB. O tempo de exposição às FQN para aquisição de resistência a estas drogas varia muito, e o tempo mínimo necessário não é conhecido. [56] Estudo realizado com ratos infectados pelo *M. tuberculosis* mostrou 100% de resistência às FQN quando eles foram tratados por oito semanas com diferentes doses de moxifloxacino. [57]

No estudo de Park e colaboradores, foi analisado o impacto da curta exposição às fluoroquinolonas no perfil de resistência do *M. tuberculosis*; não houve diferença de resistência a ofloxacino (OFX) entre o grupo exposto previamente a FQN e o grupo não-exposto; apenas um isolado previamente exposto a FQN demonstrou resistência a OFX e também apresentava resistência a INH, RFP e PZA – o paciente havia recebido tratamento com levofloxacino por 10 dias pelos sintomas respiratórios, 51 dias antes do

resultado positivo do exame de escarro para tuberculose. [56] No trabalho de Long e colaboradores, pacientes que receberam múltiplas prescrições de FQN tiveram maior probabilidade de apresentar tuberculose resistente a quinolonas em relação ao grupo que recebeu uma única prescrição prévia de FQN. Pacientes com isolados resistentes a FQN haviam recebido múltiplos tratamentos com ciprofloxacino; neste estudo, mais pacientes que receberam múltiplas prescrições de FQN apresentaram resistência a drogas de primeira linha no tratamento da tuberculose, quando comparados a pacientes que receberam uma única prescrição de FQN; apesar disso, não houve diferença estatística entre os grupos. [58]

No estudo realizado por Wang e colaboradores, foram testados 420 isolados de *M. tuberculosis*, com o objetivo de avaliar a suscetibilidade a quinolonas e mutações que conferem resistência a esta classe. De um total de 420 isolados, 97% apresentaram suscetibilidade as FQN; resistência a drogas de primeira linha no tratamento da tuberculose e tratamento prévio com drogas anti-TB se correlacionaram com resistência a FQN e, somando-se a isto, TB MDR teve a maior correlação com resistência às quinolonas. [59]

5.1.6 Tratamento

Em 1993, a Organização Mundial da Saúde declarou a tuberculose como uma emergência global e subseqüentemente lançou a estratégia DOTS (Directly Observed Treatment Short Course - tratamento de curta duração diretamente observado) com o objetivo de detectar e tratar os casos de pacientes bacilíferos para reduzir a transmissão e controlar a disseminação da doença. Esta estratégia consiste em cinco princípios: comprometimento governamental; detecção passiva dos casos com base na microscopia do escarro; tratamento sob observação direta; suprimento ininterrupto das drogas e um sistema de registros. Atualmente este é um programa aceito internacionalmente, implementado em 183 países. Seu alvo é detectar 70% dos casos e tratar com sucesso 85% deles. [60] Terapia combinada também é o centro da estratégia mais abrangente chamada “Stop TB Strategy” (estratégia para conter a tuberculose). Os seis objetivos do “Stop TB Strategy” são:

expandir e melhorar o DOTS, aprimorar o tratamento da co-infecção TB-HIV e da TB MDR, contribuir para o fortalecimento dos sistemas de saúde, envolver todos os profissionais de saúde, capacitar os pacientes e comunidades com tuberculose, estimular e promover as pesquisas. [42,61]

A terapia combinada para pacientes com cepas de *M. tuberculosis* susceptíveis, quando realizada de acordo com os mais elevados padrões, proporciona elevados índices de cura (>95%) e baixo risco de recidiva, além de diminuir a transmissão da doença. Com detecção de pelo menos 70% dos casos, taxas de cura de 85% ou mais e ausência de infecção pelo HIV, a incidência de tuberculose *per capita* deve cair em torno de 5-10% ao ano, e a prevalência e mortalidade devem reduzir mais rapidamente. Estas expectativas correspondem à tuberculose sensível ou resistente às drogas anti-TB; o desafio consiste em atingir altos índices de cura no tratamento de cepas resistentes. [61]

As rifamicinas estão entre os agentes esterilizantes mais potentes usados no tratamento da tuberculose e agem rapidamente após o início da terapia anti-TB. Em contraste com a isoniazida, elas continuam a ter um papel importante durante o curso do tratamento, ainda matando o bacilo mesmo após meses do seu início. A pirazinamida é uma droga importante de primeira linha, com grande atividade esterilizante, responsável pela morte dos bacilos persistentes durante a fase inicial do tratamento e responsável pelo encurtamento do tratamento de nove para seis meses, agindo em sinergismo com a rifampicina. [34, 62]

Em nota técnica do Ministério da Saúde do ano de 2009, foram divulgadas mudanças no sistema de tratamento para a tuberculose implementado pelo Programa Nacional de Controle da Tuberculose (PNCT)/Ministério da Saúde - Brasil. A primeira mudança consiste na introdução do etambutol como quarto fármaco na fase intensiva de tratamento (dois primeiros meses) do esquema básico, e tem como justificativa a constatação do aumento da resistência primária à isoniazida (de 4,4 para 6,0%) e a resistência primária à isoniazida associada à rifampicina (de 1,1 para 1,4%), observado no II Inquérito Nacional de resistência aos fármacos anti-TB conduzido em 2007-2008, em comparação com os resultados do I Inquérito Nacional, realizado no período de 1995 a 1997. A segunda mudança consiste

em introduzir a apresentação em comprimidos com dose fixa combinada dos 4 fármacos (4 em 1) para a fase intensiva do tratamento. [63]

As recomendações de tratamento são similares entre pacientes HIV-positivos e HIV-negativos; apesar disso, tioacetazona nunca deve ser utilizada nos pacientes infectados pelo HIV, à medida que pode causar reações cutâneas graves. Resposta ao tratamento e sobrevida são superiores quando os pacientes co-infectados recebem tratamento de curta duração contendo rifampicina, principalmente quando realizada terapia diretamente observada. Pacientes infectados pelo HIV com contagem de células CD4 abaixo de 100 células/ μ L tratadas com regimes intermitentes têm maior chance de recidiva com resistência a rifampicina, fato que contra-indica esta modalidade de tratamento neste grupo de pacientes. [64]

O tratamento dos pacientes com tuberculose resistente tem maior custo, maior complexidade, maior toxicidade e menor efetividade. Estes fatores contribuem para menor taxa de término do tratamento e maior mortalidade. Em relação a tratamentos específicos, não há ensaios clínicos randomizados, e a escolha do melhor agente depende do TSD ou regimes padronizados baseados no conhecimento dos padrões de sensibilidade de cada região. [42] Ao iniciar o tratamento para um paciente com suspeita ou confirmação de tuberculose resistente, alguns princípios importantes devem ser seguidos: o regime inicial deve incluir pelo menos três drogas as quais o bacilo é provavelmente sensível; não devem ser mantidas drogas de reserva, e sim utilizar o regime com maior efetividade presumida; drogas de segunda linha devem ser administradas diariamente sob observação direta; resultados bacteriológicos devem ser monitorados; se testes de suscetibilidade são disponíveis, o regime deve ser escolhido com base neste teste. A maioria das autoridades recomenda três ou quatro drogas por via oral associadas a um agente injetável as quais o isolado é sensível por 3 a 6 meses, seguidos de pelo menos 3 drogas via oral por 15 a 18 meses, com um total de 12 a 18 meses após conversão da cultura. [64]

Para um paciente com suspeita de TB MDR, baseada no caso a qual o paciente foi exposto, em região com alta prevalência ou em tratamentos prévios, um mínimo de 5 a 6 drogas devem ser utilizadas: isoniazida, rifampicina, pirazinamida, etambutol, uma fluoroquinolona e um agente injetável

como a estreptomicina, a capreomicina ou amicacina. Foi demonstrado que falta da resolução da febre com a terapia padronizada de quatro drogas (isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol) ajudam a prever a presença da MDR; apesar disso, nenhum fator é confiável para diagnóstico de TB MDR ou XDR, com exceção da cultura. Quando a sensibilidade da cepa é conhecida, um mínimo de 4 drogas às quais a micobactéria se mantém sensível são indicadas. [42, 65] A duração do tratamento é de pelo menos 18 meses após a conversão da cultura do escarro. O tratamento da TB XDR é ainda mais complicado, já que são perdidas opções terapêuticas como quinolonas e os agentes parenterais. Resistência a qualquer quinolona reflete resistência a toda classe e resistência a kanamicina geralmente indica resistência concomitante a amicacina, enquanto resistência a capreomicina ou estreptomicina geralmente são independentes dos outros agentes parenterais. O número de drogas ou duração da terapia não são bem estabelecidos. [65]

Nas diretrizes brasileiras para tratamento da tuberculose é preconizado esquema composto por estreptomicina, etambutol, ofloxacino, pirazinamida e tioacetazona. Para TB XDR é recomendado encaminhamento para referência terciária e utilização de esquemas individualizados com fármacos de reserva. [66]

A linezolida é um agente promissor no tratamento da tuberculose, mas seu alto custo é um problema para uso em larga escala; apesar de seu uso limitado na TB, já são reportados casos de cepas resistentes. Outros agentes promissores sendo estudados incluem diarilquinolina (TMC207), nitroimidazoles (OPC67683 e PA824), sudoterb (pyrrole LL3858), um derivado do etambutol (diamina SQ109), tiolactomicina, oxazolidinonas, cotrimazole e econazole. [48,66] Agentes como amoxicilina/clavulanato, claritromicina e clofazamina também podem ser utilizados, pois demonstraram eficácia *in vitro*. [42] Ressecção cirúrgica mostrou algum benefício em pacientes com resistência a várias drogas, particularmente naqueles com doença focal e que mantêm baciloscopia de escarro positiva mesmo após 4 a 6 meses de tratamento apropriado, mas seu benefício é incerto em paciente HIV-positivos. [25,42]

Com o objetivo de determinar a mortalidade e a taxa de recidiva da doença, Cox e colaboradores realizaram seguimento de 197 pacientes por até

22 meses após o diagnóstico de tuberculose; os pacientes com diagnóstico de TB MDR tiveram mortalidade de 43% ao ano e 60% apresentaram recidiva da doença; resistência inicial as drogas contribui substancialmente para o aumento da mortalidade e recorrência, mesmo após tratamento completo pela estratégia DOTS. [60] Em Lew e colaboradores, a incidência cumulativa de falha em casos novos com resistência preexistente a uma única droga foi de 8% e com resistência a 2 drogas foi de 21%. A taxa de falência do tratamento foi ainda maior quando não foi utilizada a estreptomina ou se apenas duas drogas foram utilizadas na fase de continuação da terapia. A incidência cumulativa de falha terapêutica em pacientes com resistência inicial a qualquer droga, quando utilizada rifampicina por 1 a 4 meses, foi o dobro quando comparada a pacientes que receberam rifampicina por 5 meses ou mais. [65,67] O achado mais consistente do estudo foi a associação de resistência inicial da micobactéria a drogas anti-TB com aumento significativo da incidência cumulativa de falha, recidiva e aquisição de novas resistências. Neste estudo, infecção pelo HIV não foi associada com falha ao tratamento. [67]

Em Chan and Iseman, ressecção cirúrgica como tratamento da tuberculose e adição de uma fluoroquinolona ao regime anti-TB foram associados com desfechos clínicos e microbiológicos favoráveis. Quando comparada a TB MDR, a TB XDR foi associada à pior resposta inicial e a longo prazo ao tratamento e à maior mortalidade. [65] Na TB MDR, níveis baixos de albumina, doença crônica subjacente e doença cavitária bilateral são preditores de pobre resposta ao tratamento. [42] A resistência a FQN foi associada com pobre desfecho do tratamento, enquanto intervenção cirúrgica, ausência de tratamento prévio para tuberculose e uso de FQN no tratamento foram associadas a desfecho de sucesso. [68]

6 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

As ações desenvolvidas contra tuberculose têm como meta principal a redução de um problema de saúde pública reconhecido como importante em nosso meio, tendo em vista a incidência de casos de TBC pulmonar contagiante em adultos, a mortalidade pela doença e a sua crescente associação com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida e multirresistência. Em nosso estudo, procuramos dados atualizados com taxas de resistência do *Mycobacterium tuberculosis* em nosso meio, como suporte da decisão de terapia empírica inicial em pacientes com tuberculose e também infectado pelo vírus HIV.

O uso disseminado de quinolonas no tratamento de pneumonias e infecções no trato urinário, validado por diretrizes no mundo inteiro, é demonstrada como prejudicial por diversos trabalhos realizados em regiões com alta prevalência da tuberculose, aumentando índices de resistência micobacterianos. Procuramos a relação entre o uso prévio de quinolonas e resistência a drogas utilizadas no tratamento da tuberculose, pois estas drogas são amplamente utilizadas em nosso meio.

7 OBJETIVOS

Primário:

- Determinar o perfil de sensibilidade do *Mycobacterium tuberculosis*, isolado em culturais de pacientes HIV-positivos, a drogas de primeira linha para tratamento da tuberculose (rifampicina, isoniazida, pirazinamida, estreptomicina e etambutol).

Secundários:

- Determinar como possíveis fatores de risco para resistência a drogas anti-TB o uso prévio de drogas anti-TB e quinolonas;
- Determinar fatores associados a maior mortalidade intra-hospitalar nos pacientes infectados pelo HIV e com diagnóstico de tuberculose.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nunn P et al. Tuberculosis control in the era of HIV. *Nat Rev Immunol*. 2005; 5:819-826.
2. Reid A et al. Towards universal access to HIV prevention, treatment, care, and support: the role of tuberculosis/HIV collaboration. *Lancet Infect Dis*. 2006; 6:483-495.
3. Badri M, Ehrlich R, Wood R, Pulerwitz T, Maartens G. Association between tuberculosis and HIV disease progression in a high tuberculosis prevalence area. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001; 5:225-232.
4. Girardi E, Raviglione MC, Antonucci G, Godfrey-Faussett P, Ippolito G. Impact of the HIV epidemic on the spread of other diseases: The case of tuberculosis. *AIDS* 2000; 14 (suppl 3): S47-56.
5. Havlir DV, Barnes PF. Current concepts: tuberculosis in patients with Human Immunodeficiency Virus infection. *N Eng J Med*, 1999; 340: 367-373.
6. Mitchison DA. The role of individual drugs in the chemotherapy of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4:796-806.
7. Onyebujoh P et al. Treatment of tuberculosis: present status and future prospects. *Bull World Health Organ* vol. 83 nº11 Genebra Nov. 2005.
8. Nahid P, Daley CL. Prevention of tuberculosis in HIV infected patients. *Curr Opin Infect Dis* 2006; 19:189-193.
9. Rossetti, MLR; Valim, ARM; Silva, MSN; Rodrigues, VS. Tuberculose resistente: revisão molecular. *Rev. Saúde Pública* 2002; 36: 525-532 .
10. World Health Organization/International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Report No. 3. Geneva: World Health Organization; 2004.
11. Hong Kong Chest Service/British Medical Research Council. Five-year follow-up of a controlled trial of five 6-month regimens of chemotherapy for pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136:1339-1342.
12. Pinto, WP; Hadad, DJ; Silva Telles, MA; Ueki, SY; Palaci, M; Basile, MA. Tuberculosis and drug resistance among patients seen at an AIDS reference center in Sao Paulo, Brazil. *Int J Infect Dis* 2001; 5: 93-100.

13. Daniel TM. The history of tuberculosis. *Respir Med* 2006; 100: 1862–1870.
14. Goldman et al. The evolution of extensively drug resistant tuberculosis (XDR-TB): history, status and issues for global control. *Infect Disord Drug Targets* 2007; 7:73-91.
15. Ahmad S, Mokaddas E. Recent advances in the diagnoses and treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *Respir Med* 2009; 103: 1777-1790.
16. Parsons et al. Drug resistance in tuberculosis. *Infect Dis Clin North Am* 1997;11: 905-928.
17. Dalcolmo MP et al. Multiresistant tuberculosis: history and control. *Rev Saúde Pública* 2007;41(Supl. 1): 34-42.
18. Johnson R, Streicher EM, Louw GE, Warren RM, van Helden PD, Victor TC. Drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Curr. Issues Mol. Biol* 2006; 8:97–112.
19. Migliori GB, Lodenkemper R, Blasi F, Raviglione MC. 125 years after Robert Koch’s discovery of the tubercle bacillus: the new XDR-TB threat. Is “science” enough to tackle the epidemic? *Eur Respir J* 2007; 29: 423–427.
20. Donald PR, van Helden PD. The global burden of tuberculosis — combating drug resistance in difficult times. *N Engl J Med* 2009; 23: 2393-2395.
21. Pardini M et al. Characteristics of drug-resistant tuberculosis in Abkhazia (Georgia), a high-prevalence area in Eastern Europe. *Tuberculosis* 2009; 89: 317–324.
22. Urassa W et al. Primary antimicrobial resistance among *Mycobacterium tuberculosis* isolates from HIV seropositive and HIV seronegative patients in Dar es Salaam Tanzania. *BMC Res Notes* 2008; 1: 58.
23. Chaoui I et al. Analysis of isoniazid, streptomycin and ethambutol resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Morocco. *J Infect Dev Ctries* 2009; 3: 278-284.
24. Namaei MH, Sadeghian A, Naderinasab M, Ziaee M. Prevalence of primary drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Mashhad, Iran. *Indian J Med Res* 2006; 124: 77-80.

25. Sheno S, Heysell S, Moll A, Friedland G. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: consequences for the global HIV community. *Curr Opin Infect Dis* 2009, 22:11–17.
26. Gandhi NR et al. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. *Lancet* 2006; 368: 1575–1580.
27. Velayati AA et al. Emergence of new forms of totally drug-resistant tuberculosis or totally drug-resistant tuberculosis bacilli – super extensively drug-resistant tuberculosis or totally drug-resistant strains in Iran. *Chest* 2009; 136: 420–425.
28. Alvarez TA, Rodrigues MA, Viegas CAA. Prevalence of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in patients under intermittent or daily treatment. *J Bras Pneumol.* 2009; 35: 555-560.
29. Aguiar F et al. Prevalence of anti-tuberculosis drug resistance in an HIV/AIDS reference hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13: 54-61.
30. Baptista IMFD, Oelemann MC, Opromolla DVA, Suffys PN. Drug resistance and genotypes of strains of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from Human Immunodeficiency Virus infected and non-infected tuberculosis patients in Bauru, São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 2002; 97: 1147-1152.
31. Silva PEA, Osório M, Reinhardt MC, Fonseca LS, Dellagostin OA. Drug resistance strains of *Mycobacterium tuberculosis* isolated in Brazil. *Microbes Infect* 2001; 3: 1111–1113.
32. Wolfart M, Barth AL, Willers D, Zavascki AP. *Mycobacterium tuberculosis* resistance in HIV-infected patients from a tertiary care teaching hospital in Porto Alegre, southern Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008; 102: 421—425.
33. Bergval IL, Schuitema ARJ, Klatser PR, Anthony RM. Resistant mutants of *Mycobacterium tuberculosis* selected in vitro do not reflect the in vivo mechanism of isoniazid resistance. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64: 515–523.

34. Shi R, Itagaki N, Sugawara I. Overview of anti-tuberculosis (TB) drugs and their resistance mechanisms. *Mini Rev Med Chem* 2007; 7: 1177-1211.
35. Riska PF, Jacobs Jr WR, Alland D. Molecular determinants of drug resistance in tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4: S4–S10.
36. Mphahlele M et al. Pyrazinamide resistance among South African multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 3459-3464.
37. Nguyen L, Pieters J. Mycobacterial subversion of chemotherapeutic reagents and host defense tactics: challenges in tuberculosis drug development. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2009; 49: 427–453.
38. Drobniowski FA, Rüscher-Gerdes S, Hoffner S. Antimicrobial susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* (EUCAST document E.DEF 8.1) - Report of the Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis* of the European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). *Clin Microbiol Infect* 2007; 13: 1144-1156.
39. Nahid P, Pai M, Hopewell PC. Advances in the diagnosis and treatment of tuberculosis. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3: 103-110.
40. Drobniowski FA, Caws M, Gibson A, Young D. Modern laboratory diagnosis of tuberculosis. *Lancet Infect Dis* 2003; 3:141-47.
41. Palomino JC. Newer diagnostics for tuberculosis and multi-drug resistant tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med* 2006; 12: 172-178.
42. Sheno S, Friedland G. Extensively drug-resistant tuberculosis: a new face to an old pathogen. *Annu Rev Med* 2009; 60: 307-320.
43. Diandé S et al. Risk factors for multidrug-resistant tuberculosis in four centers in Burkina Faso, West Africa. *Microb Drug Resist* 2009; 15: 217-221.
44. Faustini A, Hall AJ, Perucci CA. Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe: a systematic review. *Thorax* 2006; 61: 158–163.
45. Vashakidze L et al. Prevalence and risk factors for drug resistance among hospitalized tuberculosis patients in Georgia. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13: 1148-1153.

46. Kliiman K, Altraja A. Predictors of extensively drug-resistant pulmonary tuberculosis. *Ann Intern Med* 2009; 150: 766-775.
47. Maartens G, Wilkinson RJ. Tuberculosis. *Lancet* 2007; 370: 2030-2043.
48. Frothingham R, Stout JE, Hamilton CD. Current issues in global tuberculosis control. *Int J Infect Dis* 2005; 9: 297—311.
49. 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: e5561.
50. Ginsburg AS, Grosset JH, Bishai WR. Fluoroquinolones, tuberculosis and resistance. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 432–442.
51. Hsueh PR. Should fluoroquinolones be first-line antibiotics in the treatment of community-acquired pneumonia in areas with high incidence of tuberculosis? *J Microbiol Immunol Infect* 2007;40: 386-387.
52. Yoon YR et al. Impact of fluoroquinolones on the diagnosis of pulmonary tuberculosis initially treated as bacterial pneumonia. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9:1215–1219.
53. Wang JY et al. Empirical treatment with a fluoroquinolone delays the treatment for tuberculosis and is associated with a poor prognosis in endemic areas. *Thorax* 2006; 61: 903-908.
54. Ang D, Hsu AAL, Tan BH. Fluoroquinolones may delay the diagnosis of tuberculosis. *Singapore Med J* 2006; 47: 747-751.
55. Dooley KE, Golub J, Goes FS, Merz WG, Sterling TR. Empiric treatment of community-acquired pneumonia with fluoroquinolones, and delays in the treatment of tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2002; 34:1607–1612.
56. Park I-N et al. Impact of short-term exposure to fluoroquinolones on ofloxacin resistance in HIV-negative patients with tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007; 11: 319–324.
57. Bishai WR, Grosset JH. Emergence of fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis* during continuously dosed moxifloxacin monotherapy in a mouse model. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 3977–3979.
58. Long R et al. Empirical treatment of community-acquired pneumonia and the development of fluoroquinolone-resistant tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2009; 48:1354–1360.

59. Wang JY et al. Fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates: associated genetic mutations and relationship to antimicrobial exposure. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 860–865.
60. Cox H et al. Tuberculosis recurrence and mortality after successful treatment: Impact of drug resistance. *PLoS Med* 2006; 3: e384.
61. Dye C. Doomsday postponed? Preventing and reversing epidemics of drug-resistant tuberculosis. *Nature Reviews Microbiology* 2009; 7: 81-87.
62. Zhang Y, Mitchison D. The curious characteristics of pyrazinamide: a review. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7:6–21.
63. Nota técnica sobre as mudanças no tratamento da tuberculose no Brasil para adultos e adolescentes. Ministério da Saúde, Brasil, agosto de 2009.
64. Frieden TR, Sterling TR, Munsiff SS, Watt CJ, Dye C. Tuberculosis. *Lancet* 2003; 362: 887-899.
65. Chan ED, Iseman MD. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a review. *Curr Opin Infect Dis* 2008; 21: 587–595.
66. Comissão de Tuberculose da SBPT, Grupo de Trabalho das Diretrizes para Tuberculose da SBPT. III Diretrizes para Tuberculose da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. *J Bras Pneumol*. 2009; 35: 1018-1048.
67. Lew W, Pal M, Oxlade O, Martin D, Menzies D. Initial drug resistance and tuberculosis treatment outcomes: systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 2008; 149: 123-134.
68. Johnston JC, Shahidi NC, Sadatsafavi M, Fitzgerald JM. Treatment outcomes of multidrug-resistant tuberculosis: A systematic review and meta-Analysis. *PLoS ONE* 2009; 4: e6914.

9. ARTIGO

9.1 Artigo 1 - Previous use of quinolones as a surrogate marker for first line anti-tuberculosis drug resistance.

Caroline Deutschendorf, Luciano Z Goldani, Rodrigo P dos Santos

Formato para o BioMed Central Infectious Diseases

Title page

PREVIOUS USE OF QUINOLONES AS A SURROGATE MARKER FOR FIRST LINE ANTI-TUBERCULOSIS DRUGS RESISTANCE

Caroline Deutschendorf^{1,2§}, Luciano Zubaran Goldani¹, Rodrigo Pires dos Santos¹

¹ Infectious Disease Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

² Postgraduate student from the Postgraduate Program in Medical Science at the Federal University of Rio Grande do Sul.

All authors contributed equally to this work

§Corresponding author

e-mail addresses:

CD - caroldeutschendorf@gmail.com

LZB - lgoldani@ufrgs.br

RPS - rpsantos@hcpa.ufrgs.br

Abstract

Background: Tuberculosis drug resistant strains cause much higher rates of treatment toxicity, failure or relapse, and mortality.

Methods: We conducted a retrospective cohort study to determine risk factors associated with drug resistance in patients with HIV and *Mycobacterium tuberculosis* infection in Brazil.

Results: From 2000 to 2005, tuberculosis was diagnosed in 236 patients. Resistance to at least one drug was seen in 28 (13.6%) isolates. Multi-drug resistance was seen in 4 (1.9%) isolates. On multivariate analysis risk factors for any first-line drug resistance were: previous rifampicin ($P<0.001$), isoniazid ($P<0.001$), streptomycin ($P<0.001$) and quinolone use ($P=0.006$).

Conclusions: In our study, previous quinolone use was significantly related to first-line anti-TB drugs resistance. MDR-TB is a major problem worldwide, and we believe that quinolones should not be used as first-line antibiotics to treat pneumonia in settings where TB is endemic.

Background

TUBERCULOSIS (TB) and human immunodeficiency virus (HIV) disease are the two leading causes of infectious disease-associated mortality worldwide.¹ Co-infection with HIV has been associated with TB drug-resistance.²

Drug resistant causes much higher rates of treatment toxicity, costs, failure and mortality.³ This study was performed to determine the resistance profile of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from a population of HIV-infected patients and factors associated with resistance in southern Brazil.

Methods

A retrospective cohort study was performed at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, a 735-bed tertiary care hospital from southern Brazil. From august 2000 to august 2005, all consecutive HIV-infected patients with positive culture for *M. tuberculosis* were included.

Patient records were reviewed. Previous use of antituberculous drugs was defined as any treatment started before hospitalization. Previous use of quinolones was the use of this medication for at least five days, in a six-month period before the hospital arrival.

Mycobacterial identification and resistance profile were made according to hospital routine. Specimens from anatomic sites were inoculate in liquid MiddleBrook medium and processed by the radiometric method (Bactec 460TB System, Becton Dickinson). Lowenstein-Jensen medium were also used. The identification of TB complex was performed using the *p*-nitro-acetyl-amino-hydroxypropiophenone (NAP) test. Susceptibility tests were made using the radiometric method (Bactec System). The susceptibility test for pyrazinamide (PZA) was carried out on a modified culture medium (Bactec - PZA).

Pearson's chi-square and Fisher's exact test were used to evaluate the association between qualitative variables. Mann-Whitney test was used to compare continuous data when normality of data could not be assured. Multivariate analysis was made by Poisson regression analysis. The bilateral level of significance for the detection of differences was 5%, and data analysis was performed with SPSS software.

Results

Two hundred and eighty five patients were initially included, but forty-nine were initially excluded because of the age under eighteen or HIV test negative or not tested. The patients' characteristics are shown in Table 1.

Data from resistance profile were available from 219 patient isolates (92.7%). Resistance to any drug was seen in 14.6% (N=32). Four isolates (1.82%) were resistant to rifampin, 17 (7.76%) were resistant to isoniazid, 7 (3.19%) were resistant to pyrazinamide, 16 (7.3%) were resistant to streptomycin and 3 (1.36%) were resistant to ethambutol. Multi-drug resistant (i.e. resistance to isoniazid and rifampin) TB was seen in 4 (1.82%) patient specimens. Twenty-eight patients with resistant isolates (87.5%) were considered as having primary resistance.

In an analysis from all isolates, accounted as one or more clinical specimen from each patient with positive culture showing resistance to any drug, resistance was more common in specimens from central nervous system TB (34.4%, N=10), when compared to lymph nodes (17.6%, N=18; P=0.05), disseminated disease (16.8%, N=16; P=0.04), and from respiratory tract (12.5%, N=21, P=0.005).

Fifteen patients had previously used quinolones as described in table 2. On univariate analysis prior fluoroquinolone treatment was correlated with resistance to rifampin (OR 16.54; CI 95% 2.15 to 125.21; P<0.001), to isoniazid (OR 3.94; CI 95% 1.02 to 15.79; P=0.04), to streptomycin (OR 4.3; CI 95% 1.04 to 17.73; P=0.02), to ethambutol (OR 33.27; CI 95% 2.79 to 395.89; P<0.001) and to multidrug-resistance (OR 16.15; CI 95% 2.1 to 124.0; P<0.001), but not with resistance to pyrazinamide (OR 2.66; CI 95% 0.29 to 23.57; P=0.36). Only patients four and seven had previous use of tuberculostatics and quinolones; patient four was previously treated with rifampin, isoniazid and pirazinamide and showed resistance to rifampin, isoniazid, pirazinamide and ethambutol. Patient seven had previous use of prophylactic isoniazid and showed resistance to isoniazid, streptomycin and ethambutol.

On multivariate analysis including previous use of tuberculostatics, previous rifampicin, isoniazid, pirazinamide, streptomycin, ethambutol, or quinolone use, the risk factors for any drug resistance were: previous rifampicin

($P < 0.001$), isoniazid ($P < 0.001$) and streptomycin ($P < 0.001$) use. Previous quinolone use was also related to any drug resistance ($P = 0.006$).

Conclusions

The prevalence of TB resistance in HIV-infected patients in Rio de Janeiro was 16.6% (any first-line drugs).⁴ In Sao Paulo the prevalence of resistance to any drug was shown in more than 19% of patients co-infected with HIV and tuberculosis, and 11.3% of multidrug resistance tuberculosis.⁵ A previous study (1997-2003) from our center showed that resistance to a single drug was observed in 12.6% of 398 patients, and MDR-TB was found in 2% of patients.⁶ Two years later our local resistant profile did not change and is even lower than other parts of the country. Nonetheless, this data are from patients collected from a tertiary care single center and not necessarily represent resistance profile of general population with TB.

Others have demonstrated that previous use of quinolones was related to drug resistance.⁷ In the study by Park et al, previous ofloxacin use was not associated with ofloxacin resistance or other antituberculous drug resistance. One patient with previous use of levofloxacin developed ofloxacin, rifampin, isoniazid and pyrazinamid resistance.⁸ In the study by Wang et al, the *M. tuberculosis* isolates resistant to first-line anti-tuberculous drugs were more likely to have fluoroquinolone resistance, but they did not address a cause-effect relation between previous quinolones use and first-line anti-TB drug resistance.⁹ Long et al, showed that multiple, but not single, quinolone prescriptions were associated with quinolone resistance TB. In this study, more patients who had received multiple quinolone prescriptions had TB with first-line drug resistance.¹⁰ So far, there is no evidence of cross-resistance between quinolones and anti-TB agents. The quinolones and first line TB drugs do not share similar mechanisms of resistance and there is lack of data referring to this cause-effect relation. However, we found a correlation between previous use of quinolones and first-line TB drugs resistance.

Our study has obvious limitations. It is the result of an analysis of inpatient's samples from a single reference center, and due to the retrospective design, confounding factors could not have been controlled. On the other side,

despite lack of evidence regarding cross-resistance, previous quinolone use could be assumed as a surrogate marker of first-line TB drugs resistance.

In our study, previous quinolone use was significantly related to first-line anti-TB drugs resistance. The identification of significant associations must be accompanied by the biologic plausibility. Besides, it is important to validate these results in prospective controlled studies. Nevertheless, MDR-TB is a major problem worldwide, and we believe that quinolones should not be used as first-line antibiotics to treat pneumonia in settings where TB is endemic.

Competing Interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

CD: conceived of the study, participated in the design of the study, participated in data collection and wrote the manuscript.

RPS: conceived of the study, participated in the design and coordination of the study, helped to draft the manuscript.

LZG: conceived of the study, participated in the design and coordination of the study, helped to draft the manuscript.

All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

We would like to thank FIPE (Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil) for partial support of this study.

References

1. Reid A, Scano F, Getahun H, et al: **Towards universal access to HIV**

- prevention, treatment, care, and support: the role of tuberculosis/HIV collaboration. *Lancet Infect Dis* 2006; **6**:483-495.
2. Faustini A, Hall AJ, Perucci CA: **Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe: a systematic review.** *Thorax* 2006; **61**:158-163.
 3. Lew W, Pai M, Oxlade O, et AL: **Initial drug resistance and tuberculosis treatment outcomes: systematic review and meta-analysis.** *Ann Intern Med* 2008; **149**:123 – 134.
 4. Fandinho F, Kritski A, Hofer C, et al : **Drug resistance patterns among hospitalized tuberculous patients in Rio de Janeiro, Brazil, 1993-1994.** *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999; **94**: 543-547.
 5. Pinto, WP; Hadad, DJ; Silva Telles MA, et al : **Tuberculosis and drug resistance among patients seen at an AIDS reference center in Sao Paulo, Brazil.** *Int J Infect Dis* 2001; **5**:93-100.
 6. Wolfart M, Barth AL, Willers D, et al: ***Mycobacterium tuberculosis* resistance in HIV-infected patients from a tertiary care teaching hospital in Porto Alegre, southern Brazil.** *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008; **102**:421-425.
 7. Vashakidze L, Salakaia A, Shubladze N, et al: **Prevalence and risk factors for drug resistance among hospitalized tuberculosis patients in Georgia.** *Int J Tuberc Lung Dis* 2009;**13**:1148-1153.
 8. Park IN, Hong SB, Oh YM, et al: **Impact of short-term exposure to fluoroquinolones on ofloxacin resistance in HIV-negative patients with tuberculosis.** *Int J Tuberc Lung Dis* 2007; **11**:319–324.
 9. Wang JY, Lee LN, Lai HC, et al: **Fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates: associated genetic mutations and relationship to antimicrobial exposure.** *JAC* 2007; **59**: 860-865.
 10. Long R, Chong H, Hoepfner V, et al: **Empirical treatment of community-acquired pneumonia and the development of fluoroquinolone-resistant tuberculosis.** *Clin Infect Dis* 2009; **48**:1354-1360.

Tables

Table 1. Demographic characteristics of patients.

All patients (N)	236
Age – median, interquartile range (years)	33 (27 – 39)
Men [% (N)]	64.4 (152)
CD4 - median, interquartile range (cels/ μ L); N=141	84 (38 – 172)
Viral load – median, interquartile range (log/ml); N=50	4.88 (3.96 – 5.39)
Site of infection [% (N)]	
Pulmonary	52.5 (124)
Disseminated*	25.4 (60)
Lymph nodes	11.4 (27)
Pleural	4.7 (11)
CNS	3.4 (8)
Others**	2.6 (6)
Median time to start treatment – interquartile range (days); N=228***	1 (0 – 7)
Outcome [% (N)]	
In-hospital death	33.5 (79)
Discharge	66.5 (157)

* Defined as infection in two non-contiguous sites, or blood, bone marrow and liver

** Urinary tract, pericardial, joints, mediastinal mass, abscesses, bone, mastoiditis

*** Since the sample was collected

Table 2. Characteristics of patients with use of quinolones previously to diagnosis of tuberculosis

	Age	Gender	Quinolone	Days of use	Days from therapy to culture ¹	Date of culture	Indication of use	Any drug resistance ²	Outcome
Patient 1	21	F	levofloxacin	11	30	04-oct-00	Respiratory infection	No	Discharge
Patient 2	31	M	ciprofloxacin	7	45	03-feb-01	Respiratory infection	Yes	Death
Patient 3	34	M	levofloxacin	8	133	25-may-01	Respiratory infection	No	Discharge
Patient 4	19	M	levofloxacin	5	9	03-aug-01	Respiratory infection	Yes	Discharge
Patient 5	60	M	ciprofloxacin levofloxacin	5	30	19-oct-01	Respiratory infection	No	Discharge
Patient 6	27	F	ciprofloxacin	13	71	13-dec-01	Suspect of NTM infection	No	Death
Patient 7	39	F	levofloxacin	5	29	03-may-02	Respiratory infection	Yes	Death
Patient 8	31	F	levofloxacin, ciprofloxacin	12 2	13	23-apr-02	Respiratory infection	No	Death
Patient 9	43	M	gatifloxacin	> 5 days	< 6 months	04-sep-02	Respiratory infection	No	Discharge
Patient 10	40	F	levofloxacin	10	10	31-oct-02	Respiratory infection	No	Discharge
Patient 11	27	F	levofloxacin	10	17	26-dec-02	Respiratory infection	Yes	Discharge
Patient 12	34	M	levofloxacin	5	29	06-mar-03	Respiratory infection	Yes	Death
Patient 13	33	M	ciprofloxacin levofloxacin	3 7	14	29-mar-04	Diarrhea Respiratory infection	No	Death
Patient 14	29	F	levofloxacin	7	< 6 months	28-sep-04	Respiratory infection	No	Death
Patient 15	33	F	levofloxacin	6	< 6 months	26-jul-05	Respiratory infection	No	Discharge

Note. NTM – non-tuberculous mycobacteria;

¹Days from therapy to culture, means the number of days from quinolone therapy initiation to date of culture.

² Any drug resistance, means resistance to rifampicin, isoniazid, pirazinamide, or streptomycin.

11. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Nosso estudo tem limitações óbvias no que se refere ao desenho (retrospectivo), a seleção de pacientes (um único centro) o que pode ter gerado vieses na coleta de dados não sistematizados em prontuário e vieses de seleção.

Em relação a dados coletados no Hospital de Clínicas de Porto Alegre em período anterior (1997 a 2003), houve aumento na taxa de resistência a isoniazida, porém não foi realizado teste estatístico para avaliar a diferença entre as amostras. De qualquer maneira, há consonância com dados nacionais que justificam a adição de quarta droga (etambutol) ao esquema básico de tratamento da tuberculose.

A maior prevalência de isolados resistentes em sistema nervoso central encontrada em nossa análise não tem referência anterior na literatura. Poderia representar maior tempo de evolução da doença em pacientes cujo tratamento já não seria eficaz, com disseminação do bacilo (hipótese não testada).

O achado mais importante do estudo se refere ao uso prévio de quinolonas como fator de risco para resistência às drogas de primeira linha para tratamento da tuberculose. Há alguns estudos prévios que remetem à mesma associação, mas não é conhecido mecanismo de resistência que confira plausibilidade biológica ao achado. Deve haver estudos prospectivos que validem estes resultados. Apesar disso, achamos que o uso de quinolonas para tratamento de pneumonia comunitária em localidades onde a tuberculose atinge níveis endêmicos deve ser evitado.

