

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG**

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ICB**

**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

**Drielle Maron**

**RESISTÊNCIA DO *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* A  
MÚLTIPLOS FÁRMACOS**

**Belo Horizonte**

**2017**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ICB**  
**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

**Drielle Maron**

**RESISTÊNCIA DO *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* A  
MÚLTIPLOS FÁRMACOS**

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Pós-graduação em Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito à obtenção do título de Especialista.

Orientador: Cláudio José Augusto

**Belo Horizonte**

**2017**

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades e fé para acreditar que seria capaz.

Ao meu orientador, Cláudio José Augusto por se disponibilizar a me orientar. Muito obrigada pela paciência e dedicação na orientação deste trabalho.

A todos os professores do curso de Especialização em Microbiologia por me proporcionar conhecimento que de uma forma ou outra contribuiu para este trabalho.

Aos meus pais pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

A Ester e a Ruth pela companhia diária e apoio nos momentos em que sentia vontade de desistir.

Aos familiares e amigos que estiveram presentes neste momento, pelo apoio e paciência. Obrigada pelos mimos que me deram.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

A tuberculose é uma doença infecciosa, tem como agente etiológico o *Mycobacterium tuberculosis*, bacilos aeróbios que acometem principalmente os pulmões. A principal porta de entrada no organismo é pelas vias aéreas. A tuberculose é um problema mundial de saúde pública e o número de casos cresce a cada ano, é mais encontrada em regiões onde a densidade populacional é alta. O diagnóstico é feito por meio de exames clínicos e radiológicos. A quimioterapia tem função de cura e de evitar a propagação do bacilo no controle da tuberculose, e o abandono do tratamento por parte do paciente é um dos fatores determinantes para selecionar linhagens resistentes aos fármacos. As estratégias de programas governamentais também tem papel importante no controle da tuberculose. A existência de linhagens resistentes dificulta o tratamento e a prevenção da TB, causando sua disseminação. Desta forma, o presente trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica que procura relatar a resistência do *Mycobacterium tuberculosis* frente aos principais fármacos utilizados no tratamento da tuberculose pulmonar.

**Palavras-chave:** Tuberculose. *Mycobacterium tuberculosis*. Resistência aos fármacos.

## ABSTRACT

Tuberculosis is an infectious disease, its etiologic agent is *Mycobacterium tuberculosis*, which is an aerobic bacillus that mainly affects the lungs. The main port of entry into the body is through the airways. Tuberculosis is a global public health problem and the number of cases is increasing each year, it is most commonly found in regions where population density is high. The diagnosis is made through laboratory tests. Chemotherapy has the function of curing and preventing the spread of bacillus in the control of tuberculosis, and abandonment of treatment by the patient is one of the determining factors for selecting drug resistant strains. The strategies of government programs also play an important role in the control of tuberculosis. The existence of resistant strains hinders the treatment and prevention of tuberculosis, causing its diffusion. In this way, the present work is a bibliographical review that tries to report the resistance presented by *Mycobacterium tuberculosis* against the main drugs used in the treatment of pulmonary tuberculosis.

**Key words:** Tuberculosis. *Mycobacterium tuberculosis*. Resistance to drugs.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Microscopia eletrônica de varredura digitalizada de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> sob ampliação de 15549x.....	18
Figura 2 – Baciloscopia positiva: Esfregaço corado pelo método de Ziehl-Neelsen.....	19
Figura 3 – Esfregaço corado pelo método de coloração por fluorescência (auramina-rodamina).....	20
Figura 4 – <i>Mycobacterium tuberculosis</i> em meio Lowenstein-Jensen, após seis semanas de cultivo a 37 °C.....	21
Figura 5 – Esfregaços de cultura de micobactérias.....	22

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificações de acordo com o padrão de resistência do <i>Mycobacterium tuberculosis</i> aos fármacos utilizados no tratamento da tuberculose.....	28
Tabela 2 – Genes e Mecanismos de resistência aos fármacos em <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	35

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Antes de Cristo
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
BAAR	Bacilo Álcool-Ácido Resistente
BK	Bacilo de Koch
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DOTS	<i>Directly Observed Treatment Short course</i>
EMB	Etambutol
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
INH	Isoniazida
LJ	Lowenstein-Jensen
LPSN	List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature
MDR	Multirresistência
MGIT	Mycobacteria Growth Indicator Tube
MNT	Micobactérias não causadoras de tuberculose
MS	Ministério da Saúde
NALC-NaOH	N-acetil-L-cisteína - hidróxido de sódio
OK	Ogawa-Kudoh
OMS	Organização Mundial de Saúde
pH	Potencial de Hidrogênio
PNB	Ácido p-nitrobenzóico
PNCT	Programa Nacional de Controle da Tuberculose
PZA	Pirazinamida
PZase	Pirazinamidase
RMP	Rifampicina
RNA	Ácido Ribonucléico
RRDR	Região de Determinação de Resistência à Rifampicina
SM	Streptomomicina
TB	Tuberculose
TOD	Tratamento Diretamente Observado
XDR	Extensivamente resistente

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo Geral .....	13
2.2 Objetivos Específicos .....	13
3. METODOLOGIA .....	14
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
4.1 Tuberculose .....	15
4.2 Transmissão.....	15
4.2.1 Manifestações Clínicas .....	16
4.3 Micobactérias .....	16
4.3.1 Baciloscopia.....	18
4.3.2 Cultura para Micobactérias.....	20
4.4 Métodos De Diagnóstico De TB Resistente .....	22
4.5 Fundamentos da Quimioterapia Múltipla.....	24
4.6 Resistência.....	27
4.6.1 Mecanismos De Resistência .....	29
4.6.2 Resistência à Isoniazida .....	30
4.6.3 Resistência à Rifampicina .....	31
4.6.4 Resistência à Pirazinamida .....	32
4.6.5 Resistência à Etambutol .....	33
4.6.6 Resistência à Estreptomicina .....	34
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	36
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	38

## 1. INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa descoberta há milhares de anos, seu agente etiológico é o *Mycobacterium tuberculosis*, o qual se propaga através do ar por meio de gotículas contendo bacilos expelidos por uma pessoa doente com tuberculose pulmonar ativa (ERTAL, 2011).

Embora o *M. tuberculosis* seja capaz de se instalar em outros órgãos do corpo humano, a forma pulmonar apresenta maior importância epidemiológica à saúde pública por ser mais frequente e principalmente ser responsável pela manutenção da cadeia de transmissão. Os primeiros sintomas manifestados pela doença são tosse com ou sem expectoração purulenta por mais de duas semanas, febre e dores torácicas dificultando a respiração (SANTOS E BARROSO, 2015).

Esta doença é mais encontrada onde a densidade populacional é alta, está constantemente associada a condições sociais de pobreza e a outras doenças, como a coinfeção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). A TB é um problema global de saúde pública e o número de casos vem aumentando, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que um terço da população mundial esteja infectada pelo *M. tuberculosis* e que a cada ano em torno de 9,4 milhões de pessoas contraem a doença, destas 1,7 milhões chegam ao óbito (AUGUSTO et al. 2013; BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO, 2016). O Brasil ocupa a 20ª posição em carga de tuberculose, representando 1,5% dos casos estimados no mundo e 33% dos estimados para as Américas (BRASIL, 2017).

O diagnóstico da TB é efetuado por meio de exames laboratoriais, clínicos, radiológicos e testes moleculares. No diagnóstico laboratorial, normalmente, é feito a baciloscopia direta que detecta presença do bacilo em amostras de origem pulmonar, a cultura onde é possível isolar e identificar a micobactéria e o teste de sensibilidade aos fármacos utilizados no tratamento da TB (SANTOS E BARROSO, 2015).

A quimioterapia moderna tem sido fundamental, pois executa um duplo papel no controle da tuberculose, além de curar o indivíduo diagnosticado com a doença, evita a transmissão do bacilo. No Brasil o Ministério da Saúde (MS)

padronizou o tratamento como esquema básico por seis meses a rifampicina, isoniazida, etambutol e Pirazinamida (BRASIL, 2008). Embora o tratamento existente tenha sucesso na maioria dos casos, em 2015 foram reportadas mundialmente 480 mil ocorrências de linhagens resistentes (MDR) aos fármacos, com 190 mil mortes associadas (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2016).

Estratégias de controle da TB têm sido elaboradas por programas governamentais, com objetivo de padronizar ações e proporcionar parcerias que cooperem para o fortalecimento dos profissionais e sistemas de saúde além de possibilitar que países em desenvolvimento com altas taxas da doença tenham acesso aos fármacos de boa qualidade, com baixo custo, inclusive para TB multirresistente (MDR) e TB extensivamente resistente (XDR), a fim de interromper a transmissão e evitar a disseminação da tuberculose (ALVES, 2010).

Um dos principais obstáculos que dificultam o controle da TB é o abandono de tratamento, porque o êxito no tratamento é amplamente dependente da adesão do paciente ao esquema adotado. O uso irregular, inadequado e falta de colaboração do paciente para o uso desse esquema terapêutico podem levar o surgimento de linhagens de *M. tuberculosis* multirresistentes aos fármacos (BRASIL, 2011). A resistência aos fármacos pelo *M. tuberculosis* se desenvolve, principalmente por mutações em genes alvo dos fármacos ou em genes que codificam ativadores dos pró-fármacos (SPIES, 2007).

A existência de linhagens MDR dificulta o tratamento e a prevenção da TB, causando sua disseminação. Assim é necessário compreender melhor o mecanismo de aquisição de resistência dos fármacos, pois o número de fármacos com princípios ativos contra o *M. tuberculosis* é limitado tornando necessários tratamentos com esquema especial, que na maioria das vezes tem menor taxa de cura e maior custo, além de contribuir para aumentar a proporção de mortes por TB. (ERTAL, 2011; ROSSETTI et al. 2002; SPIES, 2007).

Devido ao impacto do tema, justifica-se o desenvolvimento de estudos científicos acerca da resistência da *M. tuberculosis*, pois a TB é um grave

desafio à saúde pública, implicando complexa articulação entre diagnóstico precoce e tratamento eficiente para interromper sua cadeia de transmissão, com a intenção de reduzir a incidência e a mortalidade por tuberculose.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a resistência do *M. tuberculosis* aos principais fármacos utilizados nos programas brasileiros de tratamento.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Expor o aumento da transmissão ativa de linhagens *Mycobacterium tuberculosis* resistentes aos fármacos.
- Descrever a importância do uso adequado dos fármacos para evitar a disseminação da tuberculose.
- Evidenciar deficiências que o *Mycobacterium tuberculosis* multirresistentes causam no controle da tuberculose.
- Mostrar a existência de mutações em genes encontrados em isolados resistentes aos fármacos.

### **3. METODOLOGIA**

Esse trabalho foi elaborado a partir de uma revisão da literatura, por meio de buscas nas bases de dados Scielo e PubMed e principalmente o Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras Micobactérias, Manual De Recomendações Para O Controle Da Tuberculose No Brasil e Boletins Epidemiológicos.

Os artigos, manuais e livros indexados foram pesquisados em um período entre 2001 e 2017. Optou-se pela busca por termos livres, sem o uso de vocabulário controlado.

Após realizado um levantamento bibliográfico, foram excluídos manuais, artigos e livros que não tratavam do tema de forma esperada ou não se incluíam no período definido e selecionados os que estavam dentro dos objetivos do estudo.

## 4. REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Tuberculose

“É tão antiga que quase se confunde com a própria história do homem” (ERTAL, 2011). Há evidências dessa doença infecciosa com cerca de 8.000 antes de Cristo (AC). Mas a tuberculose ainda está presente nos dias atuais mantendo-se como importante problema de saúde pública, devido a sua crescente incidência em diversos grupos populacionais (REDE BRASILEIRA DE PESQUISA EM TUBERCULOSE, 2016).

A tuberculose é uma doença infecciosa causada por micobactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, também conhecido como Bacilo de Koch (BK). Atinge principalmente os pulmões e tem evolução crônica. (ERTAL, 2011). O termo tuberculose se originou pelo fato da doença causar granulomas tuberculosos chamados tubérculos, caracterizados pela presença de necrose caseosa central, com infiltrado periférico de macrófagos modificados, linfócitos, plasmócitos e fibroblastos (PAIVA, 2006).

A TB é uma das doenças que mais causam mortes em todo o mundo, sendo um grave problema de saúde pública. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 10,4 milhões de pessoas tiveram tuberculose em todo o mundo no ano de 2015, e que mais de um milhão morreram por conta da doença. No Brasil foram registrados 66.796 casos novos e 12. 809 casos de retratamento da TB no ano de 2016 (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO, 2017). A TB é também uma das principais causas de óbito entre as pessoas infectadas pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) (SANTOS E BARROSO, 2015).

### 4.2 Transmissão

As pessoas entram em contato com o bacilo *M. tuberculosis* por via aérea em praticamente a totalidade dos casos. A infecção acontece a partir da inalação de gotículas contendo bacilos expelidos pela tosse, fala ou espirro do doente com tuberculose ativa, terminando com uma resposta de hipersensibilidade tardia. Pacientes com baciloscopia de escarro positiva, são a principal fonte de infecção. As formas unicamente extrapulmonares não transmitem a doença (BRASIL, 2011).

Após a multiplicação, os bacilos podem disseminar por via linfática e pela corrente sanguínea para todo o organismo, preferencialmente nos locais mais vascularizados, ocasionando TB extrapulmonar. Mas apenas cerca de 10% a 20% das pessoas que adquirem o bacilo se tornam doentes, pois para a doença expressar é preciso que o seu sistema imunológico esteja suprimido (SANTOS E BARROSO, 2015). É possível detectar as lesões primárias depois de 4 a 12 semanas em média após a infecção. A transmissão é plena enquanto se estiver eliminando bacilos e não iniciar o tratamento (ERTAL, 2011).

Entre outros fatores que colaboram para o desenvolvimento da TB estão: o estado imunocomprometido por infecção HIV, neoplasias, cirurgias estomacais, falência renal, terapia prolongada com corticosteróides em elevadas doses, imigração vinda de países com altas taxas de prevalência de tuberculose e profissionais de saúde que desenvolvem atividades de alto risco em pacientes com tuberculose ativa. (ERTAL, 2011).

#### **4.2.1 Manifestações clínicas**

O quadro clínico mostrado pela tuberculose é bastante complexo, manifestando sob diferentes sintomas que podem confundir o diagnóstico médico. Os sintomas da infecção iniciam lentamente de forma quase sempre silenciosa, ou com manifestações bem discretas, difíceis de serem detectadas (BERTOLLI FILHO, 2001).

Apesar da dificuldade de diagnosticar a TB existem os sintomas denominados como marcadores clínicos, alguns deles são: tosse, expectoração, febre, sudorese noturna, emagrecimento rápido, dores torácicas, fraqueza, anorexia e imunodepressão. Associando esses marcadores clínicos com uma radiografia pulmonar é possível ter o diagnóstico presuntivo da doença, mesmo se a pesquisa de Bacilo Álcool-Ácido Resistente (BAAR) no escarro for negativa. (SIQUEIRA, 2012).

#### **4.3 Micobactérias**

As micobactérias são bastonetes aeróbios, classificados como bacilos (Figura 1). Não formam endósporos, tem crescimento filamentoso e variam de tamanho dependendo da espécie de 0,2 a 0,7 por 1 a 10 micrômetros (BRASIL, 2008).

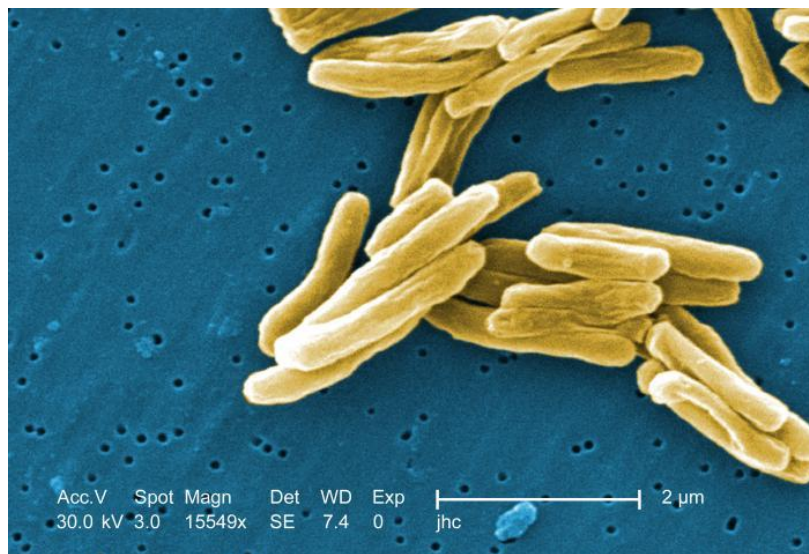
Pertencem à ordem *Actinomycetale*, família *Mycobacteriaceae*, e possuem um único gênero chamado *Mycobacterium*, constituído por espécies do complexo *M. tuberculosis*, *M. leprae* e outras micobactérias não causadoras de tuberculose (MNT) (SANTOS E BARROSO, 2015). Segundo a List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) 2017, foram registradas 186 espécies e 13 subespécies.

Muitas das características das micobactérias são relacionadas à sua parede celular distinta que é constituída principalmente por lipídios e ácidos micólicos, que formam uma camada serosa e resistente à água. Essa camada serosa torna as bactérias resistentes ao ressecamento, aumenta a virulência do organismo, conferindo resistência à digestão por fagócitos e permitindo até mesmo que a bactéria se multiplique no interior desses fagócitos e poucos fármacos conseguem entrar na célula (TORTORA *et al.*, 2016). Alguns lipídios presentes na parede celular retêm o corante Fucsina formando complexos que são responsáveis pela propriedade bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) das micobactérias (BRASIL, 2011).

Na membrana citoplasmática do *M. tuberculosis* são sintetizados niacina e pigmentos carotenoides e no citoplasma são produzidas enzimas como a nitrato-redutase, essas substâncias são utilizadas nos testes bioquímicos de identificação do bacilo (SANTOS E BARROSO, 2015).

O *M. tuberculosis* se adaptou para desenvolver na espécie humana, perdeu a capacidade de multiplicação no meio externo, ampliou a virulência para, na continuidade, restringir sua capacidade destrutiva. Então os pulmões dos seres humanos tornou-se um ambiente benéfico para a sobrevivência desse bacilo, que ganhou a viabilidade de reproduzir em um ambiente quente, úmido e arejado. O ciclo de reprodução do *M. tuberculosis* se renova a cada 18 horas em média, classificando-as no grupo das micobactérias de crescimento lento (BERTOLLI FILHO, 2001).

Figura 1- Microscopia eletrônica de varredura digitalizada de *Mycobacterium tuberculosis* sob ampliação de 15549x



Fonte: CARR, 2006

#### 4.3.1 Baciloscopia

A baciloscopia é um método utilizado mundialmente para o diagnóstico da TB, pesquisa a presença de bacilos álcool-ácido resistentes em esfregaços de amostras preparados e corados com metodologia de ziehl-Neelsen. Por ser uma técnica simples, o exame ser direto da amostra, rápido e de baixo custo, a baciloscopia é eficiente para detectar o paciente bacilífero e assim ele terá prioridade no tratamento e pode ser realizada em laboratório de baixa complexidade (BRASIL, 2008; PEDRO, 2011).

As amostras clínicas devem ser coletadas e enviadas para o laboratório de forma adequada, pois os resultados da baciloscopia dependem da qualidade da mesma. Para diagnosticar TB pulmonar as amostras solicitadas são de origem respiratória: escarro (espontâneo ou induzido), lavado gástrico, lavado brônquico, lavado brônquico-alveolar, biópsia pulmonar e aspirado transtraqueal (BRASIL, 2008).

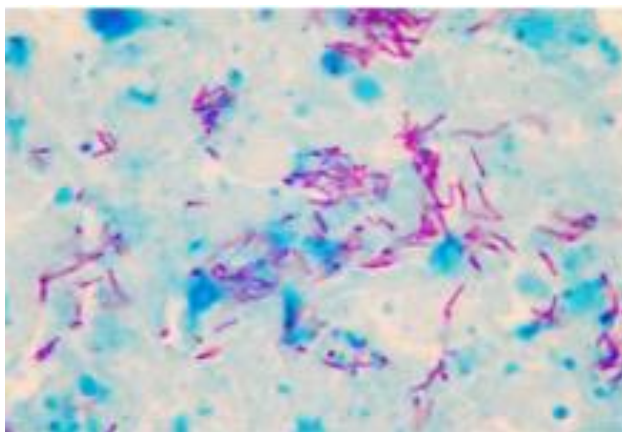
Os ácidos micólicos presentes na parede celular das micobactérias se ligam a fucsina fenicada usada na coloração pelo método de Ziehl-Neelsen e não descoram após lavagem com solução de álcool-ácido preservando a cor vermelha (Figura 2) (SANTOS E BARROSO, 2015).

Existem outros métodos como o de Kinyoun, similar ao Ziehl-Neelsen, mas utiliza uma concentração maior de fucsina fenicada e exclui a etapa de aquecimento, é uma técnica a frio. Assim como o método de coloração por fluorescência, utilizando fluorocromos (auramina-O ou auramina-rodamina) que consiste na coloração de auramina, detectando os BAAR quando expostos a microscopia de fluorescência. Esfregaços corados por compostos fluorescentes são visualizados em aumento de 250X a 450X, possibilitando a leitura de um maior número de campos em menos tempo (Figura 3) (ALMEIDA JÚNIOR, 2014).

A baciloscopia é um procedimento considerado com baixa sensibilidade, aproximadamente 65% e alta especificidade 95%. O escarro de indivíduos com TB-pulmonar geralmente contém um grande número de BAAR, facilmente detectáveis pela microscopia direta. Visando melhorar as taxas de sensibilidade preconiza-se a coleta em duas amostras por paciente. O esfregaço também é feito de forma estendida (2-3 lâminas). A baciloscopia é indicada para acompanhar a eficiência do tratamento mediante redução bacilar e/ou negatização do escarro em exames mensais, indiferente do volume da secreção (BRASIL, 2008).

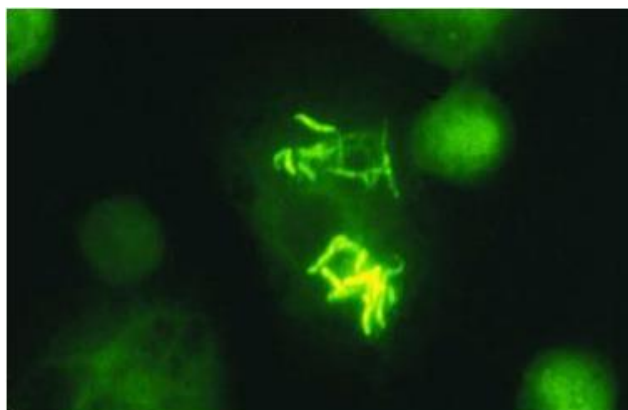
O resultado da baciloscopia segue a padronização da OMS, para ser considerado positivo o número mínimo de BAAR está estimado entre 5000 a 10000 por mililitro (BRASIL, 2008).

Figura 2 – Baciloscopia positiva: Esfregaço corado pelo método de Ziehl-Neelsen



Fonte: LAPENTA, 2014

Figura 3 – Esfregaço corado pelo método de coloração por fluorescência (auramina-rodamina)



Fonte: ALMEIDA, 2014

O tratamento de escarro pode ser feito com agentes mucolíticos, esses liquefazem as amostras, o que permite melhor visualização de BAAR em esfregaços. A solução contendo N-acetil-L-cisteína e hidróxido de sódio (NALC-NaOH) é um agente mucolítico eficaz e amplamente utilizado. Esfregaços feitos após o tratamento das amostras com NALC-NaOH apresentam menos debris e maior concentração de bacilos. Esse procedimento pode aumentar consideravelmente a sensibilidade da baciloscopia (ALMEIDA JÚNIOR, 2014).

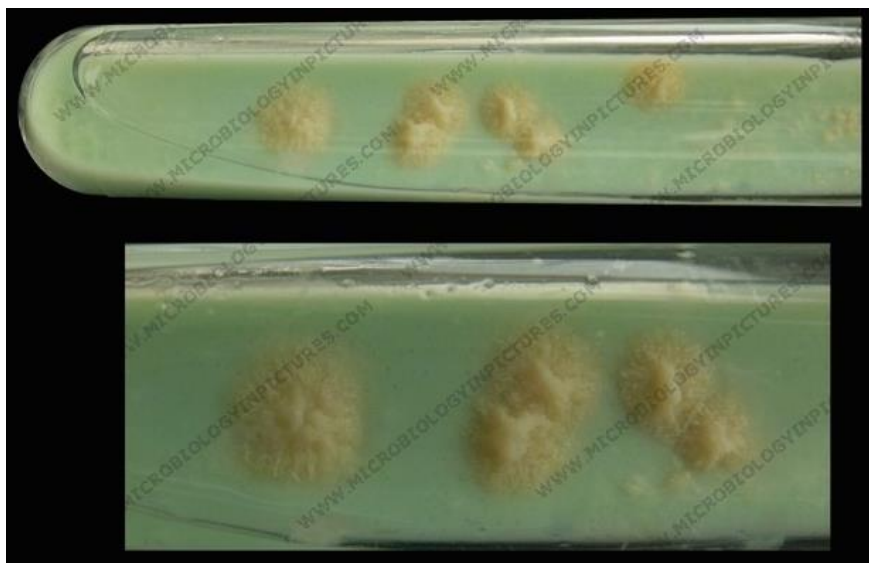
#### **4.3.2 Cultura para micobactérias**

A cultura é um método que permite o crescimento e o isolamento de micobactérias a partir da semeadura da amostra clínica, em meios de cultura sólidos ou líquidos, é específico e sensível para identificar micobactérias, principalmente a TB, pois a especificidade para o seu diagnóstico é maior que 99% e a sensibilidade pode variar entre 70 a 96%. Essa técnica é capaz de detectar de 10 a 100 bacilos cultiváveis por milímetros de escarro, identificar a espécie de micobactéria isolada e possibilitar a realização do teste de sensibilidade aos fármacos antituberculose. Portanto, é considerado o método padrão-ouro (BRASIL, 2008).

Basicamente os critérios para a realização da cultura são: o diagnóstico, o controle e a vigilância de resistência aos fármacos (BRASIL, 2008).

Os meios de cultura mais empregados são: os sólidos, Lowenstein-Jensen (LJ) (Figura 4) e Ogawa-Kudoh (OK) e os líquidos, Middlebrook 7H9 e Middlebrook 7H9 modificado, podendo ser aplicados em sistemas automatizados ou manuais (ALMEIDA JÚNIOR, 2014).

Figura 4 - *Mycobacterium tuberculosis* em meio Lowenstein-Jensen, após seis semanas de cultivo a 37 ° C.



Fonte: MICROBIOLOGY IN PICTURES, 2015

A cultura em meio sólido tem como desvantagem gerar resultados tardios e sensibilidade inferior àquela obtida com a utilização de meios líquidos. Em meio sólidos a cultura manual varia de 14 a 28 dias até 8 semanas, e a cultura automatizada varia de 5 a 42 dias. Em meios líquidos a cultura varia de 12 a 15 dias (ALMEIDA JÚNIOR, 2014; BRASIL, 2008).

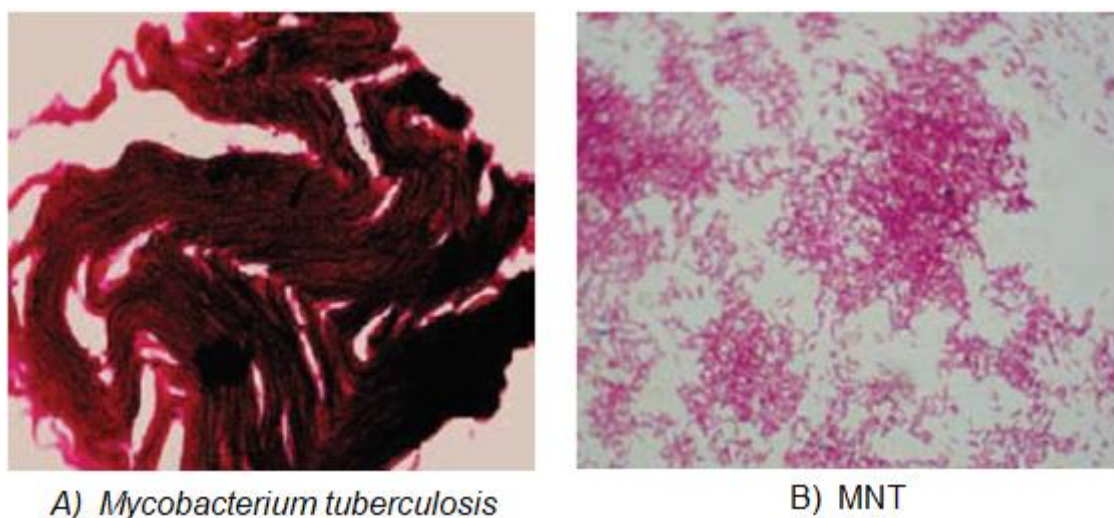
No entanto, o uso de meios de cultura líquidos tem suas limitações como, por exemplo, a contaminação cruzada entre amostras durante o processo e tendência a contaminação por outros microrganismos ou outras micobactérias não causadoras de tuberculose (MNT). Por isso para obter resultados esperados é muito importante dar ênfase a biossegurança e ao controle de qualidade de todo o processo (ALMEIDA JÚNIOR, 2014).

A partir da cultura de micobactérias pode-se observar as colônias, suas características morfológicas, presença de pigmento, aspecto e a contaminação do tubo (TORTORA *et al.*, 2016).

As colônias de *M. tuberculosis* são acromógenas normalmente de cor creme, com aspecto de couve-flor, formação de corda positiva, ácido p-nitrobenzóico (PNB) negativo, niacina positiva, rugosas e sem emulsificação, permitindo a visualização de grumos. As colônias de MNT são pigmentadas ou acromógenas, lisa ou rugosa, formação de corda negativa, ácido p-nitrobenzóico (PNB) positivo, niacina negativa (Figura 5) (BRASIL, 2008).

A cultura também é indicada em casos de contato de TB resistente, para investigar populações com maior risco de conter linhagens de *M. tuberculosis* resistente entre outros (BRASIL, 2008).

Figura 5 – Esfregaços de cultura de micobactérias



Fonte: BRASIL, 2008

#### 4.4 Métodos de diagnóstico de TB resistente

Diagnosticar a resistência é fundamental para estabelecer um bom resultado do esquema terapêutico e planejar estratégias de tratamento em grande escala. Monitorar a resistência indica que um programa de controle da tuberculose está sendo efetivo (CAMPOS, 2006; DALCOLMO, 2007).

Diversos métodos podem ser usados para testar a sensibilidade do *M. tuberculosis* sendo o método das proporções em meios de LJ considerado como padrão ouro (BRASIL, 2011; ROSSETI, 2002).

O método das proporções é o mais empregado, porém essa técnica é demorada, possui limitações e inconsistências, nos testes de sensibilidade a. Rifampicina e Isoniazida são os únicos que tem confiabilidade comprovada dentre os fármacos frequentemente testados. Desse modo, deve-se considerar o histórico terapêutico junto com o resultado do teste de sensibilidade quando a finalidade é decidir qual esquema medicamentoso utilizar em pacientes já tratados de TB (DALCOLMO, 2007).

Os sistemas de cultura líquida automatizados visam um crescimento mais rápido do *M. tuberculosis*, em um período de até três semanas, pois permitem a identificação do patógeno diretamente do espécime clínico. Possuem sensibilidade elevada, são utilizados para isolamento e detecção de resistência aos fármacos de primeira linha (estreptomicina, isoniazida, rifampicina e etambutol) e de segunda linha. O mais utilizado é o sistema BACTEC® MGIT® 960 (Mycobacteria Growth Indicator Tube - MGIT), existindo outros como o MB/BacT Alert® e VersaTREK® (PEDRO, 2017; SOTERO, 2015).

O MGIT 960 não utiliza material radioativo, pois utiliza o meio de cultura líquido Middlebrook, é feito com base fluorescente. É uma metodologia sensível e permite o monitoramento contínuo do crescimento bacteriano. O MB/BacT por um sensor detecta o CO<sub>2</sub> produzido pelo metabolismo micobacteriano mudando a coloração. Utilizado preferencialmente em amostras de sangue e outros líquidos. O VersaTREK detecta as micobactérias pela atenuação da pressão devido ao consumo do oxigênio, em qualquer amostra clínica, incluindo sangue e urina (PEDRO, 2017; SOTERO, 2015).

E-TEST® é um teste quantitativo de sensibilidade aos antimicrobianos, o resultado é obtido entre cinco a dez dias após o crescimento de *M. tuberculosis* no meio de cultura. Apresenta alta concordância para a detecção de linhagens MDR quando comparado ao método de proporções. É de baixo custo podendo ser uma opção para diagnóstico rápido da resistência das micobactérias (BRASIL, 2011).

Testes moleculares que identificam resistências fornecem resultados mais rápidos, entre um ou dois dias. Estes detectam mutações no ácido desoxirribonucleico (DNA) das micobactérias que contêm resistência a determinados fármacos. Porém estes testes não são capazes de constatar todas as possíveis resistências, pois os mecanismos moleculares causadores de resistência não são totalmente compreendidos (PEREIRA, 2017).

Entre os testes moleculares sobressai o Xpert® MTB/RIF que é um teste de amplificação de ácidos nucleicos utilizado para detecção de *M. tuberculosis* e de mutações no gene *rpoB*, conferidoras de resistência à rifampicina. A expectativa é que o Xpert® MTB/RIF permita detectar as resistências precocemente, assim inicia-se rapidamente um tratamento adequado e reduz a transmissão de TB resistente. A OMS recomendou a utilização deste teste desde 2010 expandindo a sua aplicação global (PEREIRA, 2017).

#### **4.5 Fundamentos da quimioterapia múltipla**

Por ser a capaz de acometer diretamente nos casos bacilíferos, a quimioterapia foi designada a ser a mais relevante “arma sanitária” no tratamento da TB. “Junto com a introdução da quimioterapia da TB, caminha um progressivo conhecimento da farmacodinâmica do seu agente etiológico, o *M. tuberculosis*.” (DALCOLMO, 2007, p. 35).

A utilização da monoterapia (um fármaco) estimula o aumento de mutantes resistentes, assim sendo necessária a associação de outros fármacos no tratamento terapêutico da TB. O princípio da quimioterapia múltipla na tuberculose está estipulado desde que estudos nos modelos *in vitro* e *in vivo* demonstraram as particularidades da multiplicação diferenciada do *M. tuberculosis*, conforme a menor ou maior disponibilidade de oxigênio. Com isso é possível neutralizar as micobactérias naturalmente resistentes, e eliminar as persistentes devido ao longo tempo de tratamento (DALCOLMO, 2007).

A OMS declarou a TB como emergência mundial em 1993, e determinou a estratégia *Directly Observed Treatment Short course* (DOTS) como resposta para o controle desta patologia. A estratégia se baseia em um conjunto de boas práticas para o controle da TB. Foi adotada em inúmeros países inclusive o

Brasil. Em 2006, a estratégia Stop-TB/OMS é lançada trazendo novas contribuições sobre as metas para o controle da tuberculose, melhorando a qualidade do DOTS (BRASIL, 2011; DALCOLMO, 2007).

A partir dessas estratégias, conseguiu-se uma melhora relevante no panorama mundial da TB, em 2015, a prevalência estimada foi 42% menor do que em 1990, mas a doença continua sendo uma emergência global. Então, a OMS definiu que do ano de 2015 até 2035 vai reduzir coeficiente de incidência de tuberculose para menos de 10 casos por 100 mil habitantes e o número de óbitos em 95%. Criando um Plano Global pelo Fim da Tuberculose 2016-2020 e planos regionais para regiões estratégicas, prevendo “Um mundo livre da tuberculose”. No Brasil, desde 2016, o Ministério da Saúde (MS) juntamente com o Programa Nacional de Controle da Tuberculose (PNTC) está construindo o *Plano Nacional pelo Fim da Tuberculose* como problema de saúde pública (BRASIL, 2016).

O Tratamento Diretamente Observado (TDO) é um elemento essencial dessas estratégias expostas, consiste em fortalecer a adesão do paciente ao tratamento, evitando os casos de abandono e prevenir o aparecimento de linhagens resistentes aos fármacos, ampliando a probabilidade de cura. O TDO disponibiliza profissional da saúde para orientar a tomada da medicação do paciente, podendo ser na unidade de saúde ou domiciliar, do início do tratamento até a sua cura. Isso aumenta a qualidade na cobertura do tratamento no país, aumentando as taxas de cura e diminuindo as taxas de abandono do mesmo (BRASIL, 2011).

O PNTC propõe novas estratégias reforçando o TDO juntamente com outros programas governamentais, aumentando o controle da TB e de outras comorbidades, como a AIDS. Desenvolve práticas como vigilância epidemiológica, medidas de proteção, integração com a atenção básica, avaliação, acompanhamento e monitoramento, nas esferas federal, estadual e municipal. A intenção é ampliar o acesso às medidas de controle das populações classificadas prioritárias, como, pessoas privadas de liberdade, em situação de rua, indígenas e profissionais de saúde devido à maior vulnerabilidade em adoecer. Estipula como metas a serem atingidas por todas

as unidades federadas: detecção de pelo menos 70% dos casos estimados, tratamento adequado de 100% dos casos diagnosticados, obter cura em 85% ou mais e manter o abandono em menos de 5%5 (BRASIL, 2011; PEREIRA *et al.*, 2016).

A TB é uma doença tratável e curável na grande maioria dos casos, contanto que, sejam obedecidos os princípios da quimioterapia (adequada associação dos fármacos, doses corretas e uso por tempo suficiente) e que não ocorra abandono do tratamento. Para a eficácia do tratamento é fundamental que o diagnóstico seja preciso, assim como a determinação da resistência aos fármacos (GONÇALVES, 2014; SOTERO, 2015).

O tratamento terapêutico atual preconizado para TB suscetível tem duração mínima de seis meses, podendo ser prolongado a critério médico e é bifásico. Consiste em um esquema no qual o paciente utiliza quatro fármacos: Isoniazida (INH), Rifampicina (RMP), Pirazinamida (PZA), Etambutol (EMB) nos dois primeiros meses, fase nomeada inicial ou intensiva, onde a maioria dos bacilos são eliminados, seguidos de INH e RMP por quatro meses, fase nomeada de manutenção, onde pretende-se eliminar as micobactérias persistentes e evitar a recaída (CARDOSO, 2017; PEREIRA, 2017; SANTOS E BARROSO, 2015).

Ao constatar o aumento à resistência primária à INH, em 2009, o EMB foi inserido como quarto fármaco na fase intensiva de tratamento, aumentando consideravelmente a proteção contra possíveis mutações genéticas do *M. tuberculosis*, especialmente a multirresistência (CARDOSO, 2017; FURLAN, 2016).

Em casos nos quais o tratamento terapêutico com fármacos de primeira linha falhou ou de doentes que tiveram contato vicinal com casos de TB resistente ativo, deve-se iniciar um esquema terapêutico empírico para TB-MDR. O tratamento de TB-MDR inclui pelo menos cinco fármacos com eficácia provável e tem duração recomendada de 20 meses, sendo oito meses para a fase inicial, a qual se aplica um fármaco injetável de segunda-linha e doze meses para a fase de manutenção, onde administra os demais fármacos. O esquema padrão preconizado pelo Ministério da Saúde faz uso de estreptomina

(injetável) além de etambutol, levofloxacino, pirazinamida e terizidona (GONÇALVES, 2014; PEREIRA, 2017).

O tratamento da TB-XDR consiste em uma associação de fármacos bem mais complexa que o da TB-MDR, além disso, há pouca disponibilidade de fármacos, o que dificulta significativamente o tratamento (GONÇALVES, 2014).

Para a escolha do esquema de tratamento mais eficiente é recomendado avaliar o comportamento metabólico do bacilo e sua localização na lesão tuberculosa, justificando assim o uso de fármacos com capacidade bactericida precoce e atividade esterilizante, com o propósito de reduzir a população bacilar e o surgimento de resistência aos fármacos administrados simultaneamente (DALCOLMO, 2012).

#### **4.6 Resistência**

Os casos de tuberculose resistentes é um grave problema e têm aumentado a nível mundial. Fatores como a carência de um esquema terapêutico padronizado, a dificuldade na sua efetivação, escassez na distribuição de fármacos em áreas com poucos recursos, desconhecimento de um tratamento anterior, ignorância da importância de um esquema padronizado e a não adesão do paciente ao tratamento prescrito, contribui negativamente para o aumento dessa resistência aos fármacos. O Teste de Sensibilidade detecta a resistência ou sensibilidade do *M. tuberculosis* aos fármacos aplicados no tratamento da TB como a rifampicina, isoniazida, pirazinamida, etambutol e estreptomicina. (BRASIL, 2008).

Os tipos de resistência do *M. tuberculosis* podem ser compreendidos em: Resistência inata, onde o *M. tuberculosis* é naturalmente resistente a muitos antimicrobianos, devido especialmente, ao envelope hidrofóbico, que impede a passagem de muitos compostos. Outros determinantes do potencial de resistência, como por exemplo, enzimas hidrolíticas, são codificados pelo genoma; resistência primária, caracterizada pela presença do bacilo resistente a um ou mais fármacos em pacientes não tratados ou com tratamento realizado a menos de um mês para TB e a resistência adquirida que se define como, resistência do bacilo a um ou mais fármacos em pacientes tratados há mais de

um mês incluindo casos de recidiva, retorno após uso inadequado, abandono ou falência do tratamento (SPIES, 2007; BRASIL, 2008). A classificação da resistência do *Mycobacterium tuberculosis* aos fármacos de acordo com o padrão está resumida na tabela 1.

Tabela 1 – Classificações de acordo com o padrão de resistência do *Mycobacterium tuberculosis* aos fármacos utilizados no tratamento da tuberculose

<b>Classificação</b>	<b>Caracterizada por:</b>
Monorresistência	Resistência a um fármaco
Polirresistência	Resistência a dois ou mais fármacos, exceto a Rifampicina e Isoniazida simultaneamente.
Multirresistência - MDR	Resistência a Rifampicina e Isoniazida simultaneamente
Resistência extensiva - XDR	Resistência simultânea a Rifampicina e Isoniazida, a uma fluoroquinolona e a um injetável de segunda linha (amicacina, canamicina ou capreomicina)

Adaptado de SANTOS E BARROSO, 2015.

A proporção de cura de casos novos de TB resistente é baixa a nível mundial e de todas as mortes relacionadas à resistência antimicrobiana no mundo, até 2050, 25% será devido a linhagens resistentes de tuberculose (BRASIL, 2017).

O tempo de tratamento é variável conforme o padrão de resistência. Os dados brasileiros de 2014 mostram que dentre os casos de tuberculose multirresistente notificados como novos 66,5% curaram ou completaram o tratamento e 16,7% abandonaram o tratamento. Já em 2016, foram diagnosticados no Brasil 1044 casos de TB resistente aos fármacos. Desses, 67% foram registrados como casos novos e 33% como retratamento, incluindo recidivas e reingresso após abandono (BRASIL, 2017).

#### 4.6.1 Mecanismos de resistência

Dos mecanismos conhecidos pelos quais se dá a resistência bacteriana, o *M. tuberculosis* adquire resistência aos fármacos somente por mutação. Não há indicação de transferência horizontal, ou seja, aquisição de resistência por plasmídeos ou transposons (BRASIL, 2008).

As mutações ocorrem no gene que codifica a proteína alvo dos fármacos, limitando a capacidade do mesmo se ligar a enzima, podem inibir a enzima que atua transformando o fármaco inativo em fármaco ativo e são capazes de aumentar a expressão da proteína alvo, sendo o fármaco incapaz de inibir na sua totalidade (SPIES, 2007). Mutações por modificação química, onde inativa a droga ou mutações que diminuem a concentração do fármaco dentro da célula, dificultando sua entrada o acelerando sua remoção, também podem ser um mecanismo de resistência (BRASIL, 2008).

A resistência cruzada também é um problema no controle da TB, sobretudo em casos de retratamento, ocorre entre os grupos farmacológicos mais importantes no tratamento (DALCOLMO, 2007).

As mutações que levam à resistência no *M. tuberculosis* são espontâneas e ocorrem ao acaso, então é significativo saber a proporção de mutantes obtidos numa população de bacilos e a taxa de mutação para os fármacos utilizados no tratamento da TB (Tabela 2). No período da infecção, nas cavidades pulmonares, a população é de  $10^7$  a  $10^9$  bacilos. Frequentemente, a resistência à isoniazida e estreptomicina desenvolve a uma taxa de  $10^{-7}$  a  $10^{-9}$  mutações por divisão celular e a resistência a rifampicina a uma taxa de  $10^{-10}$ . Isso significa que cada caso de TB pode alojar populações de bacilos separadamente resistentes a fármacos antituberculosos. Nas populações de bacilos sensíveis existe uma proporção de bactérias que sofreram mutações espontâneas e que são resistentes a algum dos fármacos. Por isso, deve-se tratar a TB com múltiplos fármacos (SPIES, 2007; BRASIL, 2008).

O fenótipo MDR é caracterizado como a capacidade das células resistirem à citotoxicidade dos fármacos. Esse fenótipo constatado em isolados clínicos deve-se a obtenção sequencial de mutações em genes que estão diretamente

relacionados com o processamento dos antimicrobianos, conferindo resistência aos mesmos. As mutações espontâneas acontecem mesmo se não houver exposição antimicrobiana. A existência de antimicrobianos propicia uma pressão seletiva para os organismos resistentes prevalecerem, principalmente em pacientes com grande lesão cavitária. Assim, detectar a resistência aos fármacos antituberculose precocemente é fundamental para o correto controle da TB resistente (PONTUAL, 2017; SOTERO, 2015).

#### **4.6.2 Resistência à Isoniazida**

O mais antigo fármaco sintético efetivo, a Isoniazida (INH) teve sua eficiência comprovada contra o *M. tuberculosis*, em 1952. Essa tem uma concentração inibitória reduzida, age em diversos alvos na célula micobacteriana, é ativa contra bacilos metabolicamente ativos, de multiplicação rápida, e possui ação restrita sobre os de crescimento lento e intermitente. A INH entra na célula por difusão passiva e funciona como uma pró-droga que requer a ativação pela enzima catalase-peroxidase, codificada pelo gene *KatG* da bactéria, inibindo a biossíntese dos ácidos micólicos, assim a micobactéria torna-se suscetível aos radicais reativos e outros fatores do meio (ALVES, 2010; MEDEIROS, 2015).

Constantemente isolados clínicos perdem a atividade das enzimas catalase-peroxidase desenvolvendo resistência a INH. Mutações no gene *KatG* restringem ou excluem a habilidade de ativar a INH. Este gene está posicionado numa região muito variável do genoma, o que pode ser a causa da instabilidade na região podendo favorecer as frequentes mutações no *KatG* em linhagens resistentes a INH (MEDEIROS, 2015; SPIES, 2007).

O alvo mais visto é a via de síntese do ácido micólico da parede celular, onde as enzimas codificadas pelos genes *InhA* e *KasA* são potenciais alvos da inibição pela INH e estão relacionados com a resistência. A enzima codificada pelo gene *ahpC* envolvida na resposta celular ao estresse oxidativo também podem ser encontradas em linhagens resistentes. É complexo detectar precisamente o alvo mais essencial, cuja inibição levará à morte celular, pois a INH tem múltiplos efeitos no *M. tuberculosis* (MEDEIROS, 2015; SPIES, 2007).

Segundo Rossetti et al.(2002) a maioria das mutações ocorrem no gene *katG*, seguido pelo *ahpC* e poucos isolados apresentou mutações *inhA*. Observou-se isolados com mutações nos genes *katG* e *ahpC* simultaneamente e uma pequena proporção não apresentou mutações nesse genes. Isso indica que há outros genes envolvidos com a resistência a isoniazida.

#### **4.6.3 Resistência à Rifampicina**

A rifampicina (RMP) é um fármaco lipofílico, derivado semi-sintético da rifamicina, altamente efetivo contra *M. tuberculosis*, pois detém efeito bactericida sobre as células metabolicamente ativas, também possui ação esterilizante eliminando bactérias em estado de latência. Foi introduzido para tratamento da TB em 1970 e reduziu o tempo da terapia anti-TB. É um antimicrobiano de largo espectro que se difunde através do envelope hidrofóbico da célula. A RMP liga a subunidade  $\beta$  da RNA polimerase, codificada pelo gene *rpoB*, inibindo a transcrição gênica da micobactéria, o que impede a síntese de RNA mensageiro e de proteína, produzindo morte celular (ALVES, 2010; MEDEIROS, 2015).

A resistência à RMP é esporádica, no entanto tem crescido atualmente, provocando o desenvolvimento de linhagens MDR. A RMP pode ser considerada como marcador para a TB-MDR, pois raramente observa-se monorresistência a ela sugerindo sua associação a outros fármacos, principalmente a INH (ROSSETTI et al. 2002; MEDEIROS, 2015).

Modificações estruturais da RNA polimerase e mutações na expressão do gene *rpoB* leva a ligação pouco eficaz do fármaco ao seu alvo, caracterizando a resistência. Os *M. tuberculosis* obtêm resistência a RMP por mutações em uma região central de 81 pares de base abrangendo os códons 507-533 do gene *rpoB*. Mais de 95% das linhagens resistentes a RMP possuem mutações nessa região (MEDEIROS, 2015).

Esta região denominada de RRDR (Região de Determinação de Resistência à Rifampicina) é utilizada como ponto alvo para métodos de 17 sondas e sequenciamento. Mas já foram observadas mutações fora desta região. Então preconiza que se os estudos moleculares para detectar a resistência falharem

na RRDR, deve-se sequenciar o gene *rpoB* inteiro, para agilizar o diagnóstico da TB-MDR (ALVES, 2010).

#### 4.6.4 Resistência à Pirazinamida

A pirazinamida (PZA) é um análogo estrutural da nicotinamida, utilizado desde 1952. A atuação da PZA é altamente específica para o *M. tuberculosis*, tendo pouco ou nenhum efeito nas demais micobactérias (RODRIGUES, 2005; SPIES, 2007).

A PZA tem capacidade de inibir a população de bacilos semidormentes, que persistem nas lesões pulmonares por TB, pois esse fármaco tem alta atividade em meios ácidos. É o fármaco mais eficaz em eliminar esses bacilos persistentes, que são os responsáveis pela recaída bacteriológica da TB. Com isso foi possível reduzir o esquema de tratamento para seis meses (MEDEIROS, 2015).

É uma pró-droga que penetra no *M. tuberculosis* através de difusão passiva e necessita ser ativada ou convertida pela ação da enzima bacteriana pirazinamidase (PZase) para sua forma ativa, o ácido pirazinóico. É bactericida e tem uma potente ação esterilizante, principalmente em meio ácido no interior dos macrófagos e em áreas de inflamação aguda. No citoplasma micobacteriano o ácido pirazinóico inibe a síntese de proteínas e alteração do potencial de membrana em pH ácido, prejudicando a biossíntese do ácido micólico e induzindo a morte do bacilo (LIMA et al., 2011; MEDEIROS, 2015).

Linhagens resistentes à PZA são frequentemente definidos pelo teste de atividade da PZase, estudos demonstram que há uma correlação entre resistência a PZA e a diminuição da atividade desta enzima (LIMA et al., 2011).

Mais de 72% dos isolados de *M. tuberculosis* PZA resistentes apresentam mutações no gene codificador da PZase, o *pncA*. Tornando-o um bom indicador do mecanismo de resistência a PZA (SPIES, 2007). No entanto existem outros mecanismos de resistência relacionados com a permeabilidade da PZA através da regulação do *pncA* ou do efluxo do ácido pirazinóico, que podem motivar o aparecimento de bacilos altamente resistentes à PZA sem obrigatoriamente causar mutações no gene *pncA* (LIMA et al., 2011).

#### 4.6.5 Resistência à Etambutol

É um composto sintético descrito em 1961 como fármaco que apresenta atividade antimicobacteriana. Desde 1966 o Etambutol (EMB) tem sido empregado no esquema primário de tratamento da TB (MEDEIROS, 2015).

O EMB é bacteriostático contra bacilos intracelulares e extracelulares principalmente os de multiplicação rápida. Atua sobre a biossíntese da parede celular, inibindo a síntese da arabinose, de arabinogalactanos e de lipoarabinomananos, dificultando a ligação dos ácidos micólicos, indispensáveis para a formação da parede micobacteriana. Então, a função do EMB é aumentar a permeabilidade da parede celular, acumulando ácido micólico e conseqüentemente a morte celular (MEDEIROS, 2015; RODRIGUES, 2005).

No *M. tuberculosis*, o EMB atua inibindo a enzima arabinosil transferase codificada pelo operon *embCAB*, que media a polimerização de arabinose para arabinogalactano, gerando acúmulo de D-arabinofuranosil-P-decaprenol. O *embCAB* contém três genes que codificam as proteínas *embC*, *embA* e *embB*. Pesquisas baseadas no sequenciamento do *embCAB* de *M. tuberculosis* evidenciaram que na maioria das vezes a resistência se desenvolve pela ocorrência de mutações nessa região. Mutações em *embB* são observadas em mais de 65% dos isolados de *M. tuberculosis* altamente resistentes ao EMB. Foram identificadas mutações em múltiplos códons que resultaram em aminoácidos diferentes na proteína *embB* (MEDEIROS, 2015; SPIES, 2007).

Baixos níveis de resistência foram encontradas em linhagens que não apresentaram mutações no gene *embB*. Estudos de mudanças alélicas vêm mostrando que mutações inerentes possibilitam determinadas substituições de aminoácidos que produzem resistência ao EMB, em contrapartida outras substituições de aminoácidos tiveram pouco ou nenhum efeito na produção de resistência. Contudo, ainda é necessário desenvolver mais estudos envolvidos na identificação de outros locais que podem ocorrer mutações nesses microrganismos resistentes (MEDEIROS, 2015).

#### 4.6.6 Resistência à Estreptomicina

A estreptomicina (SM) é um antibiótico aminoglicosídeo de amplo espectro, ativo contra bacilos em atividade. Bactericida para bacilos de multiplicação rápida, mas inativa contra os de crescimento lento ou intracelulares. Foi o primeiro fármaco eficaz disponível para tratamento da TB, sendo empregado desde 1946. Rapidamente houve surgimento de bacilos resistentes à SM, por causa do seu uso em monoterapia (MEDEIROS, 2015; SPIES, 2007).

Com a disponibilidade de outras drogas para tratar a TB, houve decréscimo do uso da SM, porém, com o perceptível aumento no número de linhagens resistentes, a SM retomou seu papel importante e é utilizado como alternativa entre os fármacos antituberculose de primeira linha (SPIES, 2007).

A SM inibe a tradução do RNA mensageiro e a síntese de proteínas, afetando sua eficiência. Age na subunidade menor do ribossomo (30S), especificadamente na proteína S12 e no RNA ribossômico de 16S, bloqueando o início da tradução do RNA mensageiro, fazendo com que a incorporação de novos aminoácidos e a revisão na cadeia polipeptídica pelo ribossomo seja ineficiente (MEDEIROS, 2015).

Em *M. tuberculosis* o mecanismo de resistência à SM, sucede por mutações no alvo do fármaco. Essas mutações afetam o gene *rpsL*, que codifica a proteína ribossomal S12, resultando na substituição de um único aminoácido. Um segundo mecanismo de resistência acontece por alterações no gene que codifica o RNA 16S (*rrs*) em duas regiões distintas. Mais da metade das linhagens resistentes à SM apresentam mutações associadas a esses genes, porém, há um terceiro mecanismo de resistência não detectado nos genes *rpsL* e *rrs*, pode estar relacionado a permeabilidade na entrada do fármaco para o interior da célula micobacteriana (COLL, 2009; MEDEIROS, 2015).

É interessante ressaltar que os *M. tuberculosis* possuem somente uma cópia do operon de genes de RNA mensageiro, logo uma única mutação pontual já pode gerar resistência (COLL, 2009).

Tabela 2 – Genes e Mecanismos de resistência aos fármacos em  
*Mycobacterium tuberculosis*

Fármacos	Genes envolvidos com a resistência	Função	Mecanismo de resistência	Frequência de mutações
Isoniazida	<i>katG</i>	Conversão do pró-fármaco	Inibição da biossíntese do ácido micólico	50-68%
	<i>inhA</i>	Alvo do Fármaco		21-34%
	<i>kasA</i>	Alvo do Fármaco		
	<i>ahpC</i>	Marcador de resistência		10-15%
Rifampicina	<i>rpoB</i>	Alvo do Fármaco	Inibição da transcrição	96-98%
Pirazinamida	<i>pncA</i>	Conversão do pró-fármaco	Inibição da síntese de ácidos graxos	72-97%
Etambutol	<i>embCAB</i>	Alvo do Fármaco	Inibição da síntese do arabinogalactan	47-65%
Estreptomicina	<i>rpsL</i>	Alvo do Fármaco	Inibição da síntese protéica	64-67%
	<i>rrs</i>	Alvo do Fármaco		8-21%

Adaptado de CÓRDOBA E CUEVAS, 2009; ROSSETTI et al. 2002.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A tuberculose é uma infecção de fácil transmissão, a evolução da doença e o resultado do tratamento dependem de diversos fatores como tamanho do inóculo, virulência da micobactéria, aptidão da imunidade do hospedeiro e de co-infecção com outras comorbidades. Esta infecção mantém-se como um problema atual por ter alta taxa de mortalidade e grande impacto social e econômico.

A resistência do *Mycobacterium tuberculosis*, um dos principais problemas no tratamento da tuberculose, é cada vez mais crescente. Segundo a OMS, a TB-MDR é a mais predominante das doenças com resistência antimicrobiana e formas de TB-XDR já foram identificadas em 37 países, incluindo o Brasil. Fatores eminentes que desencadeiam a resistência vêm desde erros passados como o uso da monoterapia ou regimes incompletos, até erros atuais e frequentes como a falta de adesão ou o abandono do tratamento por parte do paciente, a distribuição irregular e a ausência de controle da qualidade dos fármacos, principalmente em locais de alta incidência da TB.

O surgimento de linhagens resistentes pode tornar a doença sem tratamento, assim evitar a seleção de resistência é a mais importante premissa no esquema terapêutico da TB. Sendo imprescindível o conhecimento dos diferentes mecanismos de resistência desenvolvidos pelo *M. tuberculosis* aos fármacos. Apesar das tecnologias existentes serem essenciais, há necessidade de desenvolver estratégias relacionadas ao diagnóstico, ao tratamento da tuberculose resistente e ao acesso a medidas de prevenção.

A resposta à resistência está intrinsecamente ligada ao problema do diagnóstico. Então é de extrema importância superar os desafios para diagnosticar a doença. Universalizar os testes de sensibilidade e adotar novos testes diagnósticos são medidas que colaborarão para a detecção e o tratamento apropriado da TB resistente, incluindo a detecção de casos de infecção latente e sensível.

O *M. tuberculosis* expressa uma frequência acentuada de mutações genéticas, determinando uma resistência natural aos fármacos. Medidas de controle como

elaboração de novos fármacos que propiciam regimes terapêuticos mais curtos, menos tóxicos e mais eficientes, melhor controle das infecções, e especialmente, conservação dos fármacos já existentes, por meio da educação quanto ao uso dos antimicrobianos, devem ser adotadas. É interessante ressaltar que já vem sendo testados novos regimes terapêuticos, com resultados promissores, combinando novas drogas com medicamentos reconhecidamente efetivos para o tratamento da TB resistente. A expectativa é que nos próximos anos, existam esquemas terapêuticos mais eficazes, seguros e acessíveis, reduzindo o número de esquemas atualmente existentes.

O Brasil tem um importante papel no controle da TB, pois além de possuir um grande número de casos, possui um programa de controle da TB satisfatório e reconhecido internacionalmente. O sistema de saúde brasileiro tem as condições objetivas, técnicas e estruturais para eliminar a doença, a articulação de políticas públicas de proteção social vem mostrando bons resultados no controle da TB, ou seja, com determinação política e articulação de ações intersetoriais há possibilidade do país ocupar posição de liderança no cenário internacional.

Os desafios para controlar a TB no mundo ainda persistem, as perspectivas dos Programas de Controle da Tuberculose para acabar com a doença como problema de saúde pública apenas serão concretizadas exigindo que os governos assumam a responsabilidade de garantir o acesso universal aos serviços de saúde, efetivando ações que incluam diagnósticos rápidos e precisos que detectam casos novos e a resistência bacteriana, tratamentos efetivos, medidas de prevenção, medidas proteção social aos mais vulneráveis e incentivo as pesquisas e inovações.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA JÚNIOR, P.S. Desenvolvimento e avaliação da acurácia do sistema de filtração (BacFil 6.0) na detecção de bacilos álcool-ácido resistentes em amostras de lavado broncoalveolar de pacientes com suspeita de tuberculose. **RIUFES - Repositório da Universidade Federal do Espírito Santo**, Vitória, 2014. Disponível em: <<http://repositorio.ufes.br/handle/10/1338>>. Acesso em: 18 dez. 2017.

ALVES, S. L. A. Análise das Bases Moleculares da Resistência à Isoniazida e Rifampicina em Cepas Obtidas de Pacientes com Tuberculose no Estado de Goiás. **Biblioteca digital de teses e dissertações - Universidade Federal de Goiás**, Goiânia, 2010. Disponível em: <<http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/1804>>. Acesso em: 28 nov. 2017.

AUGUSTO, Claudio Jose et al . Características da tuberculose no estado de Minas Gerais entre 2002 e 2009. **J. bras. pneumol.**, São Paulo , v. 39, n. 3, p. 357-364, jun. 2013. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1806-37132013000300357&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-37132013000300357&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 08 dez. 2017.

BERTOLLI FILHO, C. História social da tuberculose e do tuberculoso: 1900-1950 [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2001. 248p. **Antropologia & Saúde collection**. ISBN 8575410067. Disponível em: <<http://books.scielo.org>>. Acesso em: 20 set. 2017.

BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO. Indicadores prioritários para o monitoramento do Plano Nacional pelo Fim da Tuberculose como Problema de Saúde Pública no Brasil. **Ministério da Saúde**, Brasília, v.48, n.8, 2017. ISSN 2358-9450.

BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO. Perspectivas brasileiras para o fim da tuberculose como problema de saúde pública. **Ministério da Saúde**, Brasília, v.47, n.13, 2016. ISSN 2358-9450.

BRASIL. Ministério da Saúde. Brasil Livre da Tuberculose: Plano Nacional pelo Fim da Tuberculose como Problema de Saúde Pública. **Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis**, Brasília, 2017. ISBN 978-85-334-2496-8.

BRASIL. Ministério da saúde. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil**, Brasília, 2011.

BRASIL. Ministério da saúde. **Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias**. Brasília, 2008.

CAMPOS, H. S. Diagnóstico da tuberculose. **Pulmão RJ**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 2, p. 92-99, 2006.

CARDOSO, M. A. Impacto das novas estratégias para o tratamento de tuberculose no Brasil nos desfechos terapêuticos. **Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas**, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/27424>>. Acesso em: 20 dez. 2017.

CARR, J. H. Digitally-colored, scanning electron microscopic image depicted a Mycobacterium tuberculosis bactéria. **Public Health Image Library**, CDC, 2006. Disponível em: <<https://phil.cdc.gov/details.aspx?pid=9997>>. Acesso em: 25 Out. 2017.

COLL, P. Fármacos con actividad frente a *Mycobacterium tuberculosis*. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, Barcelona, v. 27, n. 8, out. 2009. Disponível em: <<http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-farmacos-con-actividad-frente-mycobacterium-S0213005X09003917>>. Acesso em: 30 nov. 2017.

CÓRDOBA, B. C.; CUEVAS, R. Z. Tuberculosis drogorresistente: mecanismos moleculares y métodos diagnósticos. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, Veracruz, v. 28, n. 9, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X10000686>>. Acesso em: 30 nov. 2017.

DALCOLMO, M. P. Tratamento da tuberculose sensível e resistente. **Pulmão RJ**. v. 21, n. 1, p. 55-9, 2012.

DALCOLMO, M. P.; ANDRADE, M.K. N.; PICON, P. D. Tuberculose multirresistente no Brasil: histórico e medidas de controle. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 41, supl. 1, p. 34-42, set 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-89102007000800006&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102007000800006&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 09 nov. 2017.

ERTAL, I. S. Proposta de consulta de enfermagem: orientações em saúde aos pacientes portadores de tuberculose. Universidade Federal do Paraná, Lapa, 2013. Disponível em: <<http://www.acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/33700/sequence=1>>. Acesso em: 24 ago. 2017.

FURLAN, I. L. Biossegurança No Atendimento Do Paciente Com Suspeita Ou Diagnóstico De Tuberculose Pulmonar Em Uma Unidade De Emergência Hospitalar. **Repositório Institucional da UFSC**, Florianópolis, 2016. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/167593>>. Acesso em: 20 dez. 2017.

GONÇALVES, A. D. Concentração inibitória mínima de fármacos de primeira e segunda linha do Mycobacterium tuberculosis multirresistente e mutações relacionadas à isoniazida e rifampicina em laboratório de referência de Minas Gerais, Brasil. **Biblioteca Digital – Universidade Federal De Minas Gerais**, Belo Horizonte, 2015. Disponível em:

<<http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/handle/1843/BUBD-9VVNTC>>. Acesso em: 20 dez. 2017.

LAPENTA, Griselda. 24 de Marzo – Día Mundial de la Lucha contra la Tuberculosis. **Instituto de bioquímica clínica**. 2014. Disponível em: <[http://www.ibcrosario.com.ar/articulos/tuberculosis\\_2014.html](http://www.ibcrosario.com.ar/articulos/tuberculosis_2014.html)>. Acesso em: 06 dez. 2017.

LIMA, C. H. S.; BISPO, M. L.; DE SOUZA, M. V. N. Pirazinamida: um fármaco essencial no tratamento da tuberculose. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 3, p. 159-180, 2011. ISSN 1984-6835.

LPSN. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. 2017. Disponível em: <<http://www.bacterio.net/index.html>>. Acesso em: 30 out. 2017.

MEDEIROS, N. M. P. F. C. Caracterização da tuberculose resistente no estado da Paraíba entre 2003 e 2013. **Repositório Institucional da UFPE**, Recife, 2015. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/17759>>. Acesso em: 18 dez. 2017.

MICROBIOLOGY IN PICTURES. MYCOBACTERIUM tuberculosis. **Microbiology in Pictures**. 2015. Disponível em: <<https://www.microbiologyinpictures.com/bacteria%20photos/mycobacterium%20tuberculosis%20photos/MYTU6.html>>. Acesso em: 25 out. 2017.

PAIVA, D. D. Tuberculose. **Rev. Hospital Universitário Pedro Ernesto**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 2, jun./dez., 2006. Disponível em: <[http://revista.hupe.uerj.br/detalhe\\_artigo.asp?id=231#citar](http://revista.hupe.uerj.br/detalhe_artigo.asp?id=231#citar)>. Acesso em: 03. out. 2017.

PEDRO, H. S. P. et al. Desempenho da cultura líquida MGIT após implementação em uma rede de laboratórios públicos do estado de São Paulo. **Rev. Instituto Adolfo Lutz**, v. 76, n. 1727, 2017. Disponível em: <[http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfolutz/publicacoes/rial/rial76\\_completa/artigos-separados/1727.pdf](http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfolutz/publicacoes/rial/rial76_completa/artigos-separados/1727.pdf)>. Acesso em: 17 dez. 2017.

PEDRO, H. S. P. et al. Baciloscopia para Tuberculose pulmonar. Estudo multicêntrico do esfregaço para baciloscopia de escarro no diagnóstico da tuberculose pulmonar segundo a Organização Mundial da Saúde e o Ministério da Saúde. **Revista de Patologia Tropical**, [S.l.], v. 39, n. 4, p. 273-282, jan. 2011. ISSN 1980-8178. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/iptsp/article/view/13062/8509>>. Acesso em: 07 dez. 2017.

PEREIRA, A. A. et al. Gestão e gerenciamento dos níveis hierárquicos do programa nacional de controle da tuberculose. **Interdisciplinary Journal of Health Education**, v. 1, n. 1, p. 68-71, jan./jul., 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4322/ijhe2016002>>. Acesso em: 21 dez. 2017.

- PEREIRA, J. J. R. Tuberculose pulmonar resistente: novos conceitos. **Repositório da Universidade de Lisboa**, Lisboa, fev. 2017. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10451/31999>>. Acesso em: 20 dez. 2017.
- PONTUAL, Y. O. Avaliação dos polimorfismos do gene ABCB1 associados a fatores clínicos como preditores da Tuberculose-resistente. Dissertação (Mestrado em Ciências) - **Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas**, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/26843>>. Acesso em: 20 dez. 2017.
- REDE BRASILEIRA DE PESQUISA EM TUBERCULOSE. A história da tuberculose. 2016. Disponível em: <<http://www.redetb.org/index.php/sobre-a-tuberculose/a-historia-da-tuberculose>>. Acesso em: 24 ago. 2017.
- RODRIGUES, V. D. F. S. Caracterização de mutações associadas com a resistência à pirazinamida e etambutol em isolados de *Mycobacterium tuberculosis*. **LUME - Repositório Digital**, Porto Alegre, 2005. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/13585>>. Acesso em: 29 nov. 2017.
- ROSSETTI, M. L. R. et al. Tuberculose resistente: revisão molecular. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, n. 4, p. 525-532, 2002. ISSN 1518-8787.
- SANTOS, L.L; BARROSO, N.V.C. Pcr Em Tempo Real Utilizado Na Rotina Laboratorial Para o Diagnóstico da Tuberculose. Belo Horizonte, 2015.
- SIQUEIRA, H. R. Enfoque clínico da tuberculose pulmonar. **Pulmão RJ**, v. 21, n. 1, p. 15-18, 2012. Disponível em: <[http://sopterj.com.br/profissionais/\\_revista/2012/n\\_01/04.pdf](http://sopterj.com.br/profissionais/_revista/2012/n_01/04.pdf)>. Acesso em: 18 out. 2017.
- SOTERO, J. M. M. Análise genotípica de estirpes de *Mycobacterium tuberculosis* oriundas da Guiné-Bissau. **Repositório Comum**, 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10400.26/9523>>. Acesso em: 29 nov. 2017.
- SPIES, Fernanda Sá. Caracterização das Mutações envolvidas na Resistência de Isolados Clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* à estreptomicina e sua Relação com Sistema de Efluxo. 2007. 89 f. **Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS** – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2007.
- TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. **Microbiologia-12ª Edição**. Artmed Editora, 2016. ISBN 8582713541.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Tuberculosis Report 2016**. Geneva, 2016. Disponível em: <[http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/)>. Acesso em: 17 abr. 2017.