

Resistência primária e adquirida à pirazinamida em pacientes com tuberculose pulmonar atendidos em um hospital de referência no Recife*

Primary and acquired pyrazinamide resistance in patients with pulmonary tuberculosis treated at a referral hospital in the city of Recife, Brazil

Liany Barros Ribeiro, Vera Magalhães, Marcelo Magalhães

Resumo

Objetivo: Verificar a resistência primária e adquirida à pirazinamida em cepas de *Mycobacterium tuberculosis* provenientes de amostras de escarro de pacientes com tuberculose pulmonar. **Métodos:** Estudo prospectivo e descritivo realizado no período entre abril e novembro de 2011 em um hospital de referência para o tratamento de tuberculose em Recife (PE). Culturas, testes de sensibilidade a fármacos e testes da pirazinamidase foram realizados em um laboratório particular na mesma cidade. **Resultados:** Dos 71 pacientes incluídos no estudo, 37 eram virgens de tratamento e 34 eram casos de retratamento. Desses, 0 (0,0%) e 14 (41,2%), respectivamente, apresentaram cepas resistentes à pirazinamida. Desses 14 isolados, 10 (90,9%) apresentaram resultados negativos no teste da pirazinamidase. Dos 60 isolados que apresentaram resultados positivos para o teste da pirazinamidase, 56 (93,3%) eram sensíveis à pirazinamida. **Conclusões:** A elevada frequência de cepas resistentes à pirazinamida em pacientes em retratamento da tuberculose destaca a necessidade da realização de testes de sensibilidade à pirazinamida antes de se escolher um novo esquema de tratamento.

Descritores: *Mycobacterium tuberculosis*; Pirazinamida; Tuberculose resistente a múltiplos medicamentos.

Abstract

Objective: To determine primary and acquired resistance to pyrazinamide in *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in sputum samples from patients with pulmonary tuberculosis. **Methods:** This was a prospective, descriptive study conducted between April and November of 2011 at a referral hospital for tuberculosis in the city of Recife, Brazil. Cultures, drug sensitivity tests, and tests of pyrazinamidase activity were conducted in a private laboratory in Recife. **Results:** Of the 71 patients included in the study, 37 were treatment-naïve and 34 represented cases of retreatment. Pyrazinamide-resistant strains were isolated in 14 (41.2%) of the 34 patients who had previously been treated for tuberculosis and in none of the 37 treatment-naïve patients. Of the 14 isolates, 10 (90.9%) tested negative for pyrazinamidase activity. A total of 60 isolates tested positive for pyrazinamidase activity. Of those, 56 (93.3%) were found to be sensitive to pyrazinamide. **Conclusions:** The high frequency of pyrazinamide-resistant strains (41.2%) in patients previously treated for tuberculosis highlights the need for drug susceptibility testing prior to the adoption of a new treatment regimen.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*; Pyrazinamide; Tuberculosis, multidrug-resistant.

Introdução

Cepas multirresistentes de *Mycobacterium tuberculosis* têm surgido em todo o mundo, e há a necessidade de métodos rápidos de diagnóstico e determinação de sensibilidade às drogas antituberculose.⁽¹⁾ São escassos os dados sobre tuberculose *multidrug resistant* (MDR, multirresistente) e tuberculose *extensively drug*

resistant (XDR, extensivamente resistente) no grupo dos 22 países responsáveis por 80% dos casos de tuberculose no mundo, no qual o Brasil ocupa a 19ª colocação.⁽²⁾

No Brasil, em 2010, entre os pacientes com risco de albergarem cepas de *M. tuberculosis* resistentes (em falência de esquema, em

* Trabalho realizado no Hospital Otávio de Freitas, Recife (PE) Brasil.

Endereço para correspondência: Liany Barros Ribeiro. Rua Madre Rosa, 174, Jardim São Paulo, CEP 50781-730, Recife, PE, Brasil. Tel. 55 81 3455-5313. E-mail: lianyribeiro@gmail.com ou lianyribeiro@hotmail.com

Apoio financeiro: Nenhum.

Recebido para publicação em 7/5/2012. Aprovado, após revisão, em 26/9/2012.

recidiva ou no retorno após abandono), testes de sensibilidade aos fármacos foram realizados em apenas 32% dos casos, e a região Nordeste foi a que apresentou o menor valor para esse indicador (15,2%). Notificaram-se, naquele ano, 611 casos de tuberculose MDR, comparados a 334 em 2001, ou seja, houve um crescimento de 82% entre os anos analisados.⁽³⁾

A pirazinamida é um fármaco de primeira linha, utilizada no tratamento da tuberculose, tanto em pacientes recém-diagnosticados como no tratamento da tuberculose MDR.⁽⁴⁾ Apesar disso, testes de sensibilidade à pirazinamida não são realizados rotineiramente em muitos laboratórios, devido às dificuldades técnicas. Uma vez que o *M. tuberculosis* somente quebra a molécula da pirazinamida através da sua enzima pirazinamidase, produzindo ácido pirazinoico, a forma ativa do fármaco, em pH ácido, há uma correlação direta entre o pH e a concentração inibitória mínima do fármaco. Logo, ocorre um conflito, principalmente porque ocorre a inibição de muitas linhagens de micobactéria em pH mais baixo. Assim, a variação nas técnicas de antibiograma prejudica os dados sobre os índices de prevalência da resistência global à pirazinamida.^(5,6)

No Brasil, a maioria dos estudos sobre a resistência aos fármacos antituberculose não relata a realização de testes de sensibilidade a pirazinamida.^(7,8) Além disso, em Pernambuco, por exemplo, não há sequer pesquisas recentes sobre a resistência aos fármacos antituberculose em geral. O presente estudo pretende preencher essa lacuna relatando a frequência de resistência primária e adquirida aos fármacos antituberculose, inclusive à pirazinamida, em linhagens de *M. tuberculosis* isoladas de pacientes com tuberculose pulmonar atendidos em hospital de referência em Pernambuco.

Métodos

Estudo prospectivo, descritivo, realizado no período entre abril e novembro de 2011, num hospital de referência para o tratamento de tuberculose no estado de Pernambuco. Foram incluídos pacientes com idade igual ou superior a 18 anos, com cultura de escarro positiva para *M. tuberculosis*. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do hospital, protocolo nº 0.33.06.11.

Utilizou-se um formulário próprio, contendo as seguintes variáveis: idade, sexo, alcoolismo, tabagismo, uso de drogas ilícitas, neoplasia, diabetes, sorologia para HIV, uso prévio de pirazinamida, abandono ou irregularidade de tratamento anterior, relato de alta por cura e de uso adequado de medicação.

Os pacientes incluídos foram organizados em dois grupos. O primeiro foi constituído por indivíduos recém-diagnosticados, virgens de tratamento e atendidos no hospital, denominado grupo virgem de tratamento (VT). O segundo grupo foi representado por pacientes previamente tratados com drogas antituberculose de primeira linha, alguns submetidos a mais de um curso de tratamento e outros internados, fazendo uso de esquemas de tratamento com drogas de reserva, denominado grupo retratamento (RT).

Após a coleta e o transporte do escarro para o laboratório, o material foi depurado usando-se o método N-acetilcisteína e hidróxido de sódio.⁽⁹⁾ A pesquisa direta de BAAR foi realizada através da coloração de Ziehl-Neelsen. Utilizaram-se para o cultivo de micobactérias o meio sólido de Löwenstein-Jensen e o meio líquido Middlebrook 7H9 enriquecido com albumina bovina, glicose, catalase e ácido oleico (OADC; Becton Dickinson Co. Sparks, MD, EUA). Esse meio foi tornado seletivo pela adição de uma mistura de antibióticos: polimixina B, anfotericina B, ácido nalidíxico, trimetoprima e azlocilina (PANTA; Becton Dickinson). Após a inoculação, os meios de cultivo foram colocados em estufa a 37°C e avaliados quanto à presença de crescimento bacteriano após 7 dias de incubação, com o objetivo de se detectar eventuais micobactérias de crescimento rápido e, em seguida, reincubados e reavaliados em 30 e 60 dias antes de as amostras serem descartadas como negativas. Na identificação das culturas, empregou-se a reação em cadeia polimerase em tempo real, ensaio *in house*. A plataforma utilizada foi a TaqMan, com o desenho dos iniciadores e sondas desenvolvidos e validados anteriormente.⁽¹⁰⁾

Todas as culturas positivas foram submetidas a testes de sensibilidade. Utilizou-se o método das proporções, opção indireta, como preconizado por Canetti et al.⁽¹¹⁾ Os fármacos foram adicionados ao meio de Löwenstein-Jensen nas seguintes concentrações: estreptomicina, 4 µg/mL; isoniazida, 0,2 µg/mL; rifampicina, 40 µg/mL; e etambutol, 4 µg/mL. Os meios de Löwenstein-Jensen, com

e sem fármacos, foram solidificados em um coagulador a 80°C durante 45 minutos.

Em relação aos testes de suscetibilidade à pirazinamida, um estudo anterior⁽⁶⁾ propôs 300 µg/mL de pirazinamida no meio líquido 7H9 OADC como o ponto de corte para a definição de resistência à pirazinamida. Dado que a pirazinamida é completamente convertida a ácido pirazinoico, a pirazinamida teórica foi estimada em 156 µg/mL, de acordo com a equação de Henderson-Hasselbalch. Portanto, no presente estudo, optou-se realizar os testes de sensibilidade à pirazinamida em meio 7H9 OADC contendo 200 µg/mL e com o pH ajustado para 5,9, como preconizado naquele estudo.⁽⁶⁾

O teste da pirazinamidase foi realizado pelo método de Singh et al.⁽¹¹⁾ Para cada caso, dois tubos foram inoculados e incubados a 37°C. Após 4 dias, adicionou-se a um dos tubos 500 µg de uma solução de sulfato de ferro e amônia a 1%, preparada imediatamente antes do uso. Qualquer mudança de tonalidade de branco para róseo ou castanho foi considerada como reação positiva. Se aquele tubo testasse negativo, sua duplicata era reincubada e uma nova avaliação era realizada no décimo dia. Todas as culturas pirazinamidase negativas foram submetidas a uma reação em cadeia de polimerase em tempo real,⁽¹²⁾ com o propósito de se detectar uma possível linhagem de *M. bovis*, espécie intrinsecamente resistente à pirazinamida e, portanto, não produtora de pirazinamidase.

Para a análise dos dados, foram utilizadas distribuições absolutas e percentuais uni e bivariadas para as variáveis categóricas, assim como as medidas estatísticas média, mediana e desvio-padrão para a variável idade (técnicas de estatística descritiva). Foram utilizados o teste t de Student com variâncias iguais e o teste do qui-quadrado de Pearson ou o teste exato de Fisher quando as condições para utilização do teste do qui-quadrado não foram verificadas (técnicas de estatística inferencial). A verificação da hipótese de igualdade de médias foi realizada através do teste F de Levene.

A margem de erro utilizada na decisão dos testes estatísticos foi de 5,0%. Os dados foram digitados em uma planilha Excel, e os cálculos estatísticos foram realizados no programa *Statistical Package for the Social Sciences*, versão 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

Resultados

Foram incluídos no estudo 93 pacientes com suspeita de tuberculose. Posteriormente, 21 pacientes foram descartados por apresentarem cultura negativa de escarro para *M. tuberculosis*, e 1 paciente foi excluído por ter infecção por *M. bovis*, cepa intrinsecamente resistente à pirazinamida. A população do estudo foi constituída, então, por 71 pacientes.

Na distribuição por grupos, pertenciam aos grupos VT e RT, respectivamente, 37 (52,1%) e 34 (47,9%) pacientes.

A idade dos pacientes do grupo VT variou de 21 a 76 anos, com média de 41,0 anos, mediana de 40,0 anos e desvio-padrão de 13,90 anos. No grupo RT, a idade variou de 25 a 76 anos, com média, mediana e desvio-padrão, respectivamente, de 40,00, 37,50 e 10,73 anos. Através do teste t de Student com variâncias iguais, não houve diferença significativa entre os dois grupos em relação à média da idade ($p = 0,738$).

Na Tabela 1, apresentam-se as características dos pesquisados de forma comparativa entre os grupos, com os seguintes destaques: no grupo total, a maioria (67,6%) era do sexo masculino; um pouco mais da metade (52,1%) tinha de 18 a 39 anos; as comorbidades alcoolismo e tabagismo foram as mais frequentes (71,8% e 59,2%, respectivamente), com a ressalva de que um mesmo paciente poderia apresentar simultaneamente mais de uma comorbidade. No grupo RT, todos os pacientes relataram ter feito uso prévio do fármaco pirazinamida (100,0%); 55,9% admitiram ter abandonado o tratamento; 20,6% relataram ter utilizado o medicamento corretamente; 14,7% relataram alta por cura; e os 8,8% restantes do grupo admitiram ter feito uso irregular do medicamento. Para a margem de erro fixada, alcoolismo foi a única variável com diferença significativa entre os grupos RT e VT (85,3% vs. 59,5%; $p = 0,016$).

Na Tabela 2, os resultados dos testes de sensibilidade para cada um dos cinco fármacos testados são apresentados. É possível verificar que, no grupo VT, houve um caso de resistência à isoniazida e um de resistência à estreptomicina; todos os demais resultados foram classificados como sensíveis. Já no grupo RT, as proporções de casos resistentes variaram de 41,2% (pirazinamida) a 85,3% (isoniazida), indicando diferenças significativas entre os dois grupos em relação aos

Tabela 1 – Caracterização dos pacientes virgens de tratamento ou em retratamento com diagnóstico de tuberculose pulmonar atendidos em um hospital de referência para o tratamento de tuberculose no Recife (PE), abril-novembro de 2011.

Variáveis	Grupo				Total		p
	VT		RT				
	n	%	n	%	n	%	
Sexo							
Masculino	23	62,2	25	73,5	48	67,6	0,307*
Feminino	14	37,8	9	26,5	23	32,4	
Idade, anos							
18-39	17	45,9	20	58,8	37	52,1	0,519**
40-59	16	43,2	12	35,3	28	39,4	
60 ou mais	4	10,8	2	5,9	6	8,5	
Comorbidades							
Diabetes	6	16,2	1	2,9	7	9,9	0,109**
HIV	3	8,1	3	8,8	6	8,5	1,000**
Sem comorbidades	7	18,9	5	14,7	12	16,9	0,636*
Alcoolismo	22	59,5	29	85,3	51	71,8	0,016*
Tabagismo	21	56,8	21	61,8	42	59,2	0,668*
Uso de drogas ilícitas	8	21,6	7	20,6	15	21,1	0,915*
Retratamento da tuberculose							
Uso prévio de pirazinamida			34	100,0			N/A
Abandono			19	55,9			N/A
Irregularidade			3	8,8			N/A
Alta por cura			5	14,7			N/A
Uso adequado da medicação			7	20,6			N/A
Total	37	100,0	34	100,0	71	100,0	

VT: virgens de tratamento; e RT: retratamento. *Teste do qui-quadrado de Pearson. **Teste exato de Fisher.

Tabela 2 – Resultados dos testes de sensibilidade para cada um dos cinco fármacos nas cepas de *M. tuberculosis* de pacientes com tuberculose pulmonar virgens de tratamento ou em retratamento, atendidos em um hospital de referência para o tratamento de tuberculose no Recife (PE), abril-novembro de 2011.

Testes de sensibilidade	Grupo				Total		p*
	VT		RT				
	n	%	n	%	n	%	
Pirazinamida							
Resistente	-	-	14	41,2	14	19,7	< 0,001
Sensível	37	100,0	20	58,8	57	80,3	
Rifampicina							
Resistente	-	-	22	64,7	22	31,0	< 0,001
Sensível	37	100,0	12	35,3	49	69,0	
Isoniazida							
Resistente	1	2,7	29	85,3	30	42,3	< 0,001
Sensível	36	97,3	5	14,7	41	57,7	
Etambutol							
Resistente	-	-	19	55,9	19	26,8	< 0,001
Sensível	37	100,0	15	44,1	52	73,2	
Estreptomicina							
Resistente	1	2,7	17	50,0	18	25,4	< 0,001
Sensível	36	97,3	17	50,0	53	74,6	
Total	37	100,0	34	100,0	71	100,0	

*Teste do qui-quadrado de Pearson.

resultados de sensibilidade a todos os fármacos testados ($p < 0,05$ para todos).

No estudo da associação do teste da produção da enzima pirazinamidase com os resultados do teste de sensibilidade à pirazinamida, a Tabela 3 mostra que a proporção de casos resistentes ao fármaco foi mais elevada quando a enzima pirazinamidase estava ausente do que quando essa estava presente (90,9% vs. 6,7%). Essa diferença indica uma associação significativa entre a presença da enzima e a sensibilidade ao fármaco ($p < 0,001$).

Discussão

Em relação às características demográficas, observa-se na presente amostra um predomínio da população masculina (67,6%), resultado semelhante ao de outros estudos.⁽¹³⁻¹⁷⁾ No que concerne à faixa etária, não há uma padronização nos estudos. Na presente amostra, a tuberculose predominou entre 18 e 39 anos, resultado também encontrado em um inquérito realizado no Rio de Janeiro.⁽¹⁴⁾

As comorbidades são fatores de risco para a ocorrência de formas clínicas mais graves e de difícil diagnóstico ou aquelas responsáveis por interferir no sucesso do tratamento da tuberculose. O alcoolismo e o tabagismo estão claramente relacionados à tuberculose MDR.^(15,16) Outros estudos evidenciaram que o alcoolismo⁽¹⁸⁾ e a presença de HIV/AIDS são fatores associados ao abandono de tratamento da tuberculose pulmonar.⁽¹⁹⁾ No presente estudo, observaram-se elevados índices de alcoolismo (71,8%) e de tabagismo (59,1%). Isso ocorreu de forma semelhante nos grupos VT e RT, podendo estar relacionado com a suscetibilidade à doença. No entanto, o alcoolismo foi a única variável com diferença significativa entre os grupos VT e RT podendo estar associado a uma maior frequência de abandono de tratamento.

A coinfeção tuberculose/HIV esteve presente em igual frequência nos grupos VT e RT, demonstrando a íntima relação entre as duas doenças. Na realidade, em países em desenvolvimento, como o Brasil, a tuberculose é, frequentemente, a primeira infecção oportunista da AIDS.^(20,21) Em uma pesquisa realizada em Belo Horizonte (MG), se observou sorologia positiva para HIV em 12,5% dos casos de tuberculose.⁽²²⁾ Na África do Sul, onde existe uma elevada proporção de infecção pelo HIV na população geral (acima de 20%) e baixas proporções de cura no tratamento antituberculose, foi possível observar um aumento de tuberculose MDR e inúmeros surtos de tuberculose XDR, principalmente em hospitais e prisões que não adotavam medidas de controle da infecção por tuberculose, propostas desde 1999 pela Organização Mundial da Saúde.⁽²³⁾

No Brasil, a maior parte dos casos de tuberculose MDR é pós-primária ou adquirida, não relacionada à coinfeção pelo HIV ou a surtos institucionais, resultando da irregularidade e do abandono do tratamento. A proporção de casos novos de tuberculose MDR entre os casos novos de tuberculose é de 0,9%.⁽²¹⁾ Na presente pesquisa, no grupo VT, 1 (2,7%) e 1 (2,7%) paciente, respectivamente, apresentaram resistência primária à isoniazida e à estreptomicina, ou seja, maior que a média nacional. No entanto, o estudo foi realizado em um hospital de referência para o tratamento de tuberculose, o que pode superestimar a frequência. Entretanto, houve ausência de resistência primária à pirazinamida.

Observou-se resistência à pirazinamida em 14/71 cepas; todos os pacientes dos quais essas cepas foram isoladas relataram o uso prévio desse fármaco, e 6/14 afirmaram ter abandonado o tratamento anterior. Em João Pessoa (PB), avaliando-se o perfil de resistência em uma instituição pública de referência para o tratamento de tuberculose MDR/XDR, observou-se

Tabela 3 – Resultados do teste da pirazinamidase e do teste de sensibilidade à pirazinamida em cepas de *M. tuberculosis* de pacientes atendidos em um hospital de referência para o tratamento de tuberculose no Recife (PE), abril-novembro de 2011.

Teste da pirazinamidase	Teste de sensibilidade a pirazinamida				Total		p*
	Resistente		Sensível				
	n	%	n	%	n	%	
Positivo	4	6,7	56	93,3	60	100,0	< 0,001
Negativo	10	90,9	1	9,1	11	100,0	
Total	14	19,7	57	80,3	71	100,0	

*Teste exato de Fisher.

que, de 22 pacientes, 12 (55%) apresentaram resistência à pirazinamida, índice esse maior que o encontrado em nosso trabalho, enquanto 21 (95%) realizaram tratamento anterior para tuberculose.⁽¹⁵⁾ Outros estudos realizados no Ceará e em Minas Gerais encontraram resistência a pirazinamida, respectivamente, em 3,9% (59/1.500) e em 6,38% (20/313).^(17,24)

Um inquérito realizado na África do Sul demonstrou que, em 127 cepas de *M. tuberculosis* resistentes aos fármacos em pacientes previamente tratados, 68 (53,5%) também foram resistentes à pirazinamida, e que apenas 1 de 47 cepas de *M. tuberculosis* (2,1%) foi resistente apenas à pirazinamida, sugerindo monorresistência.

⁽⁵⁾ No mesmo estudo, também foi observado que, das 68 cepas resistentes a pirazinamida, 62 (91%) também eram resistentes à isoniazida e à rifampicina.⁽⁵⁾ No presente estudo, das 14 cepas resistentes à pirazinamida, 12 (85,7%) também apresentavam resistência à isoniazida e à rifampicina; portanto, podemos sugerir que, no nosso hospital, a resistência à pirazinamida está associada à resistência a outros fármacos, enfatizando a necessidade de se realizar testes de sensibilidade à pirazinamida antes do tratamento, principalmente, nos pacientes em retratamento.

Em um estudo realizado no Japão, observou-se que a resistência à pirazinamida foi encontrada em 53% das cepas de *M. tuberculosis* MDR. Todos os bacilos pirazinamidase positivos testados foram sensíveis à pirazinamida, e todos os bacilos pirazinamidase negativos foram resistentes a pirazinamida.⁽²⁵⁾ Esses dados são consistentes com os de uma publicação anterior.⁽²⁶⁾ Por outro lado, em uma pesquisa realizada na Tailândia,⁽²⁷⁾ a resistência à pirazinamida foi encontrada em 6% (3/50) das cepas sensíveis e em 49% (49/100) das cepas de tuberculose MDR. A atividade da pirazinamidase foi detectada em 98 cepas de *M. tuberculosis* sensíveis à pirazinamida e em 18 das resistentes à pirazinamida, resultando em uma sensibilidade de 65,4% e uma especificidade de 100% para o teste da pirazinamidase. Naquele estudo na Tailândia, a sensibilidade do ensaio pirazinamidase foi baixa em relação aos realizados anteriormente. Vários fatores, como o pH do meio, o tamanho do inóculo, a fase de crescimento e o estado metabólico do bacilo, podem ter contribuído para a falsa resistência ao teste da pirazinamidase.⁽²⁸⁾ No presente estudo, 4 (28,6%) das cepas resistentes à pirazinamida

apresentaram atividade ao teste da pirazinamidase, e 1 (1,7%) cepa apresentou resultado negativo para esse teste apesar de ter se mostrado sensível à pirazinamida. Isso sugere que outras regiões genômicas, diferentes do gene *pncA*, podem governar a resistência à pirazinamida, apoiadas por mecanismos alternativos de resistência, tais como a insuficiente captação do fármaco ou a presença de uma bomba de efluxo ativo, o que limitaria a utilidade do teste da pirazinamidase.

Estudos anteriores relataram, também, cepas de *M. tuberculosis* resistentes à pirazinamida com resultados de pirazinamidase positivos.^(11,28) Singh et al. identificaram 6 cepas com resultado positivo para pirazinamidase de 35 cepas resistentes à pirazinamida. Vale salientar que todas as cepas foram obtidas de pacientes que tinham realizado tratamento anterior para tuberculose,⁽¹¹⁾ de forma semelhante às do presente estudo. Talvez a utilização do teste da pirazinamidase, por sua simplicidade e baixo custo, seja importante como um método de triagem para a avaliação da resistência à pirazinamida, especialmente em países em desenvolvimento, respeitando-se, para a análise dos resultados, sua sensibilidade e especificidade.

A frequência de cepas resistentes à pirazinamida (41,2%) em pacientes com tuberculose no grupo RT encontrada no presente estudo destaca a necessidade da realização de testes de avaliação da sensibilidade à pirazinamida no acompanhamento desses pacientes.

Agradecimentos

Agradecemos à equipe multiprofissional do Ambulatório de Tuberculose do Hospital Otávio de Freitas e, em especial, ao Laboratório Marcelo Magalhães, que realizou a cultura e os testes de sensibilidade às drogas antituberculoase.

Referências

1. Singh P, Wesley C, Jadaun GP, Malonia SK, Das R, Upadhyay P, et al. Comparative evaluation of Löwenstein-Jensen proportion method, BacT/ALERT 3D system, and enzymatic pyrazinamidase assay for pyrazinamide susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol*. 2007;45(1):76-80. PMID:17093022 PMCID:1828947. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00951-06>
2. Kritski AL. Multidrug-resistant tuberculosis emergence: a renewed challenge. *J Bras Pneumol*. 2010;36(2):157-8. PMID:20485934. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132010000200001>

3. Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico nº 43. - Especial Tuberculose. Brasília: Ministério da Saúde; 2012.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2011.
5. Louw GE, Warren RM, Donald PR, Murray MB, Bosman M, Van Helden PD, et al. Frequency and implications of pyrazinamide resistance in managing previously treated tuberculosis patients. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2006;10(7):802-7. PMID:16848344.
6. Zhang Y, Mitchison D. The curious characteristics of pyrazinamide: a review. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2003;7(1):6-21. PMID:12701830.
7. Marques M, Cunha EA, Ruffino-Netto A, Andrade SM. Drug resistance profile of *Mycobacterium tuberculosis* in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil, 2000-2006. *J Bras Pneumol*. 2010;36(2):224-31. PMID:20485944.
8. Brito RC, Mello FC, Andrade MK, Oliveira H, Costa W, Matos HJ, et al. Drug-resistant tuberculosis in six hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2010;14(1):24-33. PMID:20003691.
9. Pfeiffer GE. *Mycobacterium*: General characteristics, laboratory detection and staining procedures. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, editors. 9th ed. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC: American Society for Microbiology; 2007. p. 543-72.
10. Lemaître N, Armand S, Vachée A, Capilliez O, Dumoulin C, Courcol RJ. Comparison of the real-time PCR method and the Gen-Probe amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in pulmonary and nonpulmonary specimens. *J Clin Microbiol*. 2004;42(9):4307-9. PMID:15365029 PMCID:516309. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.42.9.4307-4309.2004>
11. Canetti G, Rist N, Grosset J. Measurement of sensitivity of the tuberculous bacillus to antibacterial drugs by the method of proportions. Methodology, resistance criteria, results and interpretation [Article in French]. *Rev Tuberc Pneumol (Paris)*. 1963;27:217-72.
12. Pinsky BA, Banaei N. Multiplex real-time PCR assay for rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex members to the species level. *J Clin Microbiol*. 2008;46(7):2241-6. PMID:18508937 PMCID:2446918. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00347-08>
13. Gonçalves BD, Cavalini LT, Valente JG. Epidemiological monitoring of tuberculosis in a general teaching hospital. *J Bras Pneumol*. 2010;36(3):347-55. PMID:20625673. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132010000300013>
14. Oliveira HM, Brito RC, Kritski AL, Ruffino-Netto A. Epidemiological profile of hospitalized patients with TB at a referral hospital in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *J Bras Pneumol*. 2009;35(8):780-7. PMID:19750331. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132009000800010>
15. Nogueira JA, Marques RR, Silva TR, França UM, Villa TC, Palha PF. Caracterização clínico-epidemiológica dos pacientes com diagnóstico de tuberculose resistente às drogas em João Pessoa, PB. *Rev Eletr Enf*. 2008;10(4):979-89.
16. Prado TN, Caus AL, Marques M, Maciel EL, Golub JE, Miranda AE. Epidemiological profile of adult patients with tuberculosis and AIDS in the state of Espírito Santo, Brazil: cross-referencing tuberculosis and AIDS databases. *J Bras Pneumol*. 2011;37(1):93-9. PMID:21390437. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132011000100014>
17. Barroso EC, Rodrigues JL, Pinheiro VG, Campelo CL. Prevalência da tuberculose multirresistente no Estado do Ceará, 1990-1999. *J Pneumol*. 2001;27(6):310-14. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-35862001000600004>
18. Vieira AA, Ribeiro SA. Noncompliance with tuberculosis treatment involving self administration of treatment or the directly observed therapy, short-course strategy in a tuberculosis control program in the city of Carapicuíba, Brazil. *J Bras Pneumol*. 2008;34(3):159-66. PMID:18392464. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132008000300006>
19. Campani ST, Moreira Jda S, Tietbohel CN. Pulmonary tuberculosis treatment regimen recommended by the Brazilian National Ministry of Health: predictors of treatment noncompliance in the city of Porto Alegre, Brazil. *J Bras Pneumol*. 2011;37(6):776-82. PMID:22241035. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132011000600011>
20. DeRiemer K, Soares EC, Dias SM, Cavalcante SC. HIV testing among tuberculosis patients in the era of antiretroviral therapy: a population-based study in Brazil. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2000;4(6):519-27. PMID:10864182.
21. World Health Organization. Towards Universal Access to Diagnosis and Treatment of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis by 2015--WHO Progress Report 2011. Geneva: World Health Organization; 2011.
22. Lima SS, Clemente WT, Palaci M, Rosa RV, Antunes CM, Serufo JC. Conventional and molecular techniques in the diagnosis of pulmonary tuberculosis: a comparative study. *J Bras Pneumol*. 2008;34(12):1056-62. PMID:19180341. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132008001200011>
23. Gandhi NR, Shah NS, Andrews JR, Vella V, Moll AP, Scott M, et al. HIV coinfection in multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis results in high early mortality. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;181(1):80-6. PMID:19833824. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.200907-0989OC>
24. de Souza MB, Antunes CM, Garcia GF. Multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* at a referral center for infectious diseases in the state of Minas Gerais, Brazil: sensitivity profile and related risk factors. *J Bras Pneumol*. 2006;32(5):430-7. PMID:17268747.
25. Ando H, Mitarai S, Kondo Y, Suetake T, Sekiguchi JI, Kato S, et al. Pyrazinamide resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Japan. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(8):1164-8. PMID:19832709. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.03078.x>
26. Sekiguchi J, Miyoshi-Akiyama T, Augustynowicz-Kopeć E, Zwolska Z, Kirikae F, Toyota E, et al. Detection of multidrug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol*. 2007;45(1):179-92. PMID:17108078 PMCID:1828975. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00750-06>
27. Jonmalung J, Prammanan T, Leechawengwongs M, Chaiprasert A. Surveillance of pyrazinamide susceptibility among multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Siriraj Hospital, Thailand. *BMC Microbiol*. 2010;10:223. Erratum in: *BMC Microbiol*. 2010;10:278. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-10-278>
28. Shenai S, Rodrigues C, Sadani M, Sukhadia N, Mehta A. Comparison of phenotypic and genotypic methods for pyrazinamide susceptibility testing. *Indian J Tuberc*. 2009;56(2):82-90. PMID:19810590.

Sobre os autores

Liany Barros Ribeiro

Médica Pneumologista Preceptora da Residência Médica de Clínica Médica, Hospital Getúlio Vargas, e Médica Pneumologista Preceptora da Residência de Pneumologia, Hospital Otávio de Freitas, Recife (PE) Brasil.

Vera Magalhães

Professora Titular de Doenças Infecciosas. Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife (PE) Brasil.

Marcelo Magalhães

Professor Titular de Microbiologia. Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife (PE) Brasil.