

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Progresso e desafios recentes na terapêutica da tuberculose resistente

Mariana Martins Filipe

Monografia orientada pela Professora Doutora Maria João
Catalão, Professora Auxiliar

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2024

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Progresso e desafios recentes na terapêutica da tuberculose resistente

Mariana Martins Filipe

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentado à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Maria João Catalão,
Professora Auxiliar

2024

Declaração

Declaro ter desenvolvido e elaborado o presente trabalho em consonância com o Código de Conduta e de Boas Práticas da Universidade de Lisboa. Mais concretamente, afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de fraude académica, que aqui declaro conhecer, e que atendi à exigida referência de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, assumindo na íntegra as responsabilidades da autoria.

Resumo

A tuberculose (TB) é uma das doenças infecciosas mais antigas no planeta e, ainda assim, mantém-se um urgente problema da saúde pública mundial. A TB resistente é o principal obstáculo no controlo e tratamento da doença. A Organização Mundial de Saúde (OMS) preconiza regimes terapêuticos diferenciados, tendo em conta a forma de TB, mas todos são longos e envolvem a combinação de inúmeros fármacos. Na última década, uma série de novos fármacos têm sido implementados nesses regimes, desde novos antibióticos em ensaios clínicos, a reaproveitamento de outros, a abordagens inovadoras de terapias dirigidas ao hospedeiro (HDT) e imunoterapias. Estas soluções diferenciam-se de opções anteriores pela sua maior eficácia e menor toxicidade.

A resistência intrínseca e adquirida de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) veio limitar as opções farmacológicas. Porém, a evolução da sequenciação genómica permitiu elucidar significativamente a nossa compreensão dos mecanismos de resistência aos antibacilares. Ao identificar mutações predominantes, estes avanços auxiliarão no desenvolvimento de um melhor diagnóstico para uma gestão mais eficaz da TB resistente e facilitarão o desenvolvimento de novos fármacos.

O alicerce da terapêutica contra a TB é o seu diagnóstico precoce, seguido de um tratamento eficaz. Contudo, é importante perceber qual a sua acessibilidade, o custo, a influência da co-infecção TB-HIV, como abordar os vários efeitos adversos e promover o cumprimento dos planos terapêuticos, entre outros. Só mitigando também estes desafios será possível minimizar o impacto da TB resistente e, eventualmente, aspirar à sua erradicação.

Palavras-chave: Tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, tratamento, resistência, descoberta e desenvolvimento de fármacos

Abstract

Tuberculosis (TB) is one of the oldest infectious diseases on the planet and yet, it remains an urgent global public health problem. Resistant TB is the main obstacle to controlling and treating the disease. The World Health Organisation (WHO) recommends differentiated therapeutic regimens, depending on the form of TB, but they are all long and involve a combination of numerous drugs. In the last decade, a series of new drugs have been implemented in these regimens, from new antibiotics in clinical trials, to the reuse of others, to innovative immunotherapy approaches. These new solutions attempt to present a more effective and less toxic alternative to traditional regimens.

The intrinsic and acquired resistance of *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) has limited pharmacological options. However, the technological evolution of genomic sequencing has significantly elucidated our understanding of the mechanisms of resistance to antitubercular medications. By identifying predominant mutations, these advances will help to design better diagnostics for more effective management of resistant TB and facilitate the development of new drugs.

The foundation of anti-TB therapy is early diagnosis, followed by effective treatment. However, it is important to understand its accessibility, cost, the influence of the TB-HIV co-infection, how to address the various adverse effects and promote compliance with therapeutic plans, among others. Only by mitigating these challenges will it be possible to minimize the impact of resistant TB and, eventually, aspire to its eradication.

Keywords: Tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, treatment, resistance, drug discovery and development

Siglas e Abreviaturas

AM – Ácidos micólicos

AMS – Assembleia Mundial da Saúde

BAAR – Bacilos Álcool-Ácido Resistentes

Bdq – Bedaquilina

cAMP – Adenosina monofosfatase cíclica

CMI – Concentração mínima inibitória

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DPA – Decaprenilfosfo-arabinose

DPOC – Doença pulmonar obstrutiva crónica

DPR – Decaprenilfosfo-ribose

DPX – Decaprenil-fosfo-2'-ceto-D-arabinose

Emb – Etambutol

HDT – Terapias direcionadas ao hospedeiro

IGRA – Interferon Gamma Release Assays

Inh – Isoniazida

Inh-h – Isoniazida de alta dose

IV – Intravenoso(a)

Lzd – Linezolida

Mfx – Moxifloxacina

MIP – *Mycobacterium indicus pranii*

Mtb – *Mycobacterium tuberculosis*

MTC – Complexo *Mycobacterium tuberculosis*

OMS – Organização Mundial de Saúde

Pa – Pretomanida

PAS – Ácido para-aminosalicílico

Pza – Pirazinamida

Rif – Rifampicina

RNA – Ácido ribonucleico

RNAP – RNA polimerase

SNPs – Polimorfismos de nucleotídeo único

TB – Tuberculose

TB-MR – Tuberculose multirresistente

TB-RR – Tuberculose resistente à rifampicina

TB-XDR – Tuberculose extensivamente resistente

TDM – Dimicolato de trealose

TMM – Monomicolato de trealose

TSA – Teste de sensibilidade aos antibióticos

TST – Teste de sensibilidade à tuberculina

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

Índice

1. Introdução.....	11
2. Objetivos.....	12
3. Metodologia.....	12
4. Tuberculose.....	13
4.1 Agente etiológico	13
4.2 Fisiopatologia.....	14
4.3 Manifestações clínicas	15
4.4 Diagnóstico	16
4.5 Terapêutica.....	16
4.5.1 Antibacilares de primeira linha	17
4.5.2 Antibacilares de segunda linha.....	17
4.5.3 Profilaxia para a TB	18
4.6 Mecanismos de resistência aos antibacilares	19
4.6.1 Resistência genética.....	19
4.6.2 Evolução compensatória	20
4.6.3 Mecanismos defeituosos de reparação do DNA.....	20
4.6.4 Resistência induzida por bombas de efluxo.....	20
5. Progresso	21
5.1 Fármacos de primeira linha.....	23
5.2 Fármacos injetáveis de segunda linha.....	24
5.3 Fármacos em ensaios clínicos e pré-clínicos	25
5.4 Reaproveitamento de Fármacos.....	28
5.5 Terapias dirigidas ao hospedeiro	30
5.5 Imunoterapias	32
6. Desafios.....	34
7. Conclusão.....	37
8. Referências bibliográficas	38

Índice de figuras

Figura 1. Distribuição geográfica de casos incidentes de TB-MR/ RR	11
Figura 2. Representação esquemática da parede celular micobacteriana	14
Figura 3. Sete passos da fisiopatologia da tuberculose ativa	15
Figura 4. Cronologia da descoberta de fármacos utilizados no tratamento da tuberculose e principais regimes terapêuticos	22
Figura 5. Pipeline de fármacos antibacilares, em ensaios clínicos e pré-clínicos	22

Índice de tabelas

Tabela 1. Esquema terapêutico para TB sensível	17
Tabela 2. Esquema terapêutico para TB-MR.....	18
Tabela 3. Perfil de compostos promissores na terapêutica da TB-MR	30
Tabela 4. Imunoterapias para o tratamento da tuberculose em seres humanos.....	32

1. Introdução

Em 2022, a tuberculose (TB) foi a segunda principal causa de morte por um único agente infeccioso, após a doença por coronavírus (COVID-19). Foram recém-diagnosticadas, e oficialmente notificadas enquanto casos de TB, 7,5 milhões de pessoas no mundo. Geograficamente, 46% dos novos casos ocorreram no Sudeste Asiático, 23% em África e 18% na região do Pacífico Ocidental. (1) Em Portugal, o total de casos notificados foi de 1518 (2). Já em Moçambique, um dos países onde a incidência é elevada, esse valor foi de 110 084 (3). Este contraste no surgimento de novos casos de TB ilustra não só a gravidade vigente da doença, mas também os desafios regionais que o seu controlo enfrenta.

Do total de casos notificados, uma percentagem refere-se a reincidências. Muitos fatores contribuem para a sua ocorrência, como a fraca adesão à terapêutica ou dificuldades de diagnóstico. Contudo, talvez o maior obstáculo seja a adaptabilidade do bacilo responsável pela TB aos fármacos disponíveis, que resulta numa elevada resistência aos antibacilares (4). Estima-se que, em 2022, cerca de 410 000 pessoas desenvolveram TB multirresistente (TB-MR) ou resistente à rifampicina. A maioria desses casos incidiram na Índia, Filipinas, Federação Russa, Indonésia, China, Paquistão, Myanmar e Nigéria (1).

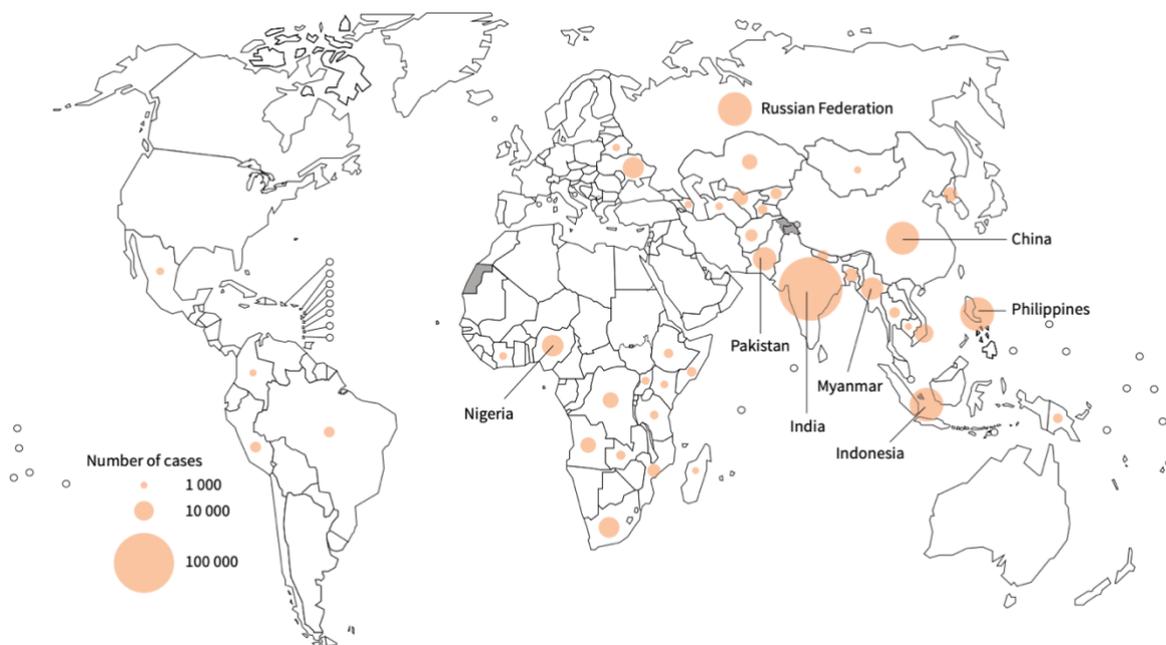


Figura 1. Distribuição geográfica de casos incidentes de TB-MR/RR, em 2022 (para países com pelo menos 1000 casos incidentes). Retirada de (1)

Houve um lento, mas enorme progresso no conhecimento, diagnóstico e tratamento da doença, desde o isolamento do bacilo responsável pela TB, em 1882 (5). Durante o século XX, foram vários os esforços para conhecer, tratar e em algumas partes do globo, até curar a TB: desde a introdução e demonstração de conceitos como TB latente, às campanhas de vacinação, à descoberta dos primeiros agentes eficazes contra a doença, como a estreptomicina e o ácido p-Amino salicílico (PAS) (6). Entretanto, sequenciou-se o genoma completo da estirpe H37Rv de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), o que permitiu, através da anotação do genoma, identificar vários genes de Mtb como possíveis alvos terapêuticos (4,7). Também surgiram novos fármacos para fazer face à TB-MR emergente, cujos regimes atuais

de tratamento são, quando comparados com os utilizados para tratar a TB suscetível aos antibióticos, menos eficazes, mais dispendiosos, tóxicos e morosos (8).

A estratégia “*End TB*”, apresentada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2016, visa reduzir em 95% as mortes por TB e em 90% a taxa de incidência de TB até 2035 (9,10). Anualmente, são apresentados relatórios do progresso feito, com resultados aquém do esperado. Aliás, estas metas não podem ser alcançadas sem intensa investigação e inovação (1). Para isso, é essencial incentivar o desenvolvimento e otimização da terapêutica antituberculosa, abordando os desafios que enfrenta, nomeadamente a TB-MR.

2. Objetivos

Esta tese pretende, através de uma revisão literária atualizada, sistematizar o progresso na terapêutica da tuberculose resistente, enquanto examina os desafios atuais no sucesso do tratamento e controlo da doença.

3. Metodologia

A redação desta monografia foi realizada maioritariamente com recurso a artigos científicos de revisão e, adicionalmente, algumas metanálises e estudos clínicos. Estes foram selecionados através de motores de busca como Mendeley, PubMed, Google Scholar e ScienceDirect, utilizando palavras-chave como “tuberculosis”, “pathogenesis”, “treatment”, “resistance”, “multidrug-resistant tuberculosis”, “clinical trials”. Alguns dos critérios na escolha dos artigos foram a relevância para o tópico em mão, a data de publicação e a qualidade da fonte.

Para aceder a relatórios e *guidelines*, nomeadamente da Organização Mundial de Saúde (OMS), dos Centers for Disease Control and Prevention (CDC) e da Direção-Geral da Saúde (DGS) foram consultados os respetivos websites. Recorreu-se ainda à base de dados de ensaios clínicos ClinicalTrials.gov, da National Library of Medicine e ao site da TB Alliance, uma organização sem fins lucrativos dedicada à descoberta, desenvolvimento e disponibilização de fármacos antituberculosos.

4. Tuberculose

4.1 Agente etiológico

A TB é uma doença bacteriana, maioritariamente causada, no ser humano, pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), comumente apelidada de bacilo de Koch, em homenagem à sua morfologia característica e ao cientista que a descobriu em 1882, Robert Koch (5). Mtb pertence ao complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTC), que inclui também *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium pinnipedii* e *Mycobacterium canettii*. Este é um complexo de bactérias geneticamente muito semelhantes, todas podendo ser infecciosas para os seres humanos, entre outros hospedeiros. Por exemplo, *M. bovis*, que é a principal bactéria causadora da TB bovina, mas também infeta vertebrados e aves. *M. microti*, *M. caprae* e *M. pinnipedii* também foram isolados e identificados pela primeira vez a partir de animais. Já *M. africanum* foi isolado pela primeira vez dos pulmões de doentes africanos com TB em 1968 (11).

Estas bactérias diferenciam-se de outras pela composição invulgar da sua parede celular. Não sendo nem totalmente Gram-negativa nem Gram-positiva, sugere-se que a parede adote uma estrutura membranar dupla: uma membrana micobacteriana externa, caracteristicamente formada por ácidos micólicos (AM) e lípidos livres, além de uma membrana interna de peptidoglicano e arabinogalactano (12).

Mais de 200 genes (6%) presentes no genoma de Mtb são necessários para codificar proteínas para o metabolismo dos ácidos gordos, o que indica a importância e variedade de ácidos gordos na fisiologia de Mtb (4). Pode mesmo dizer-se que a parede celular de Mtb é uma estrutura cerosa, robusta mas dinâmica. Certas propriedades da sua parede celular tornam-na mais resiliente e virulenta e é, aliás, por isso, que muitos antibióticos têm como alvo a síntese e o transporte dos lípidos da parede. Incluem-se nestas, por exemplo, a conformação dos AM, barreira hidrofóbica à entrada de antibióticos, que é dependente da temperatura; ou o facto do conteúdo lipídico variar de acordo com a fase do ciclo infeccioso (12). Outros fatores de virulência incluem os lípidos PDIM, os glicolípidos SL-1, dimicolato de trealose (TDM), PGL, ManLAM e LAM (13).

Na figura 2 é possível visualizar esta estrutura, bem como destacar alguns fatores de virulência.

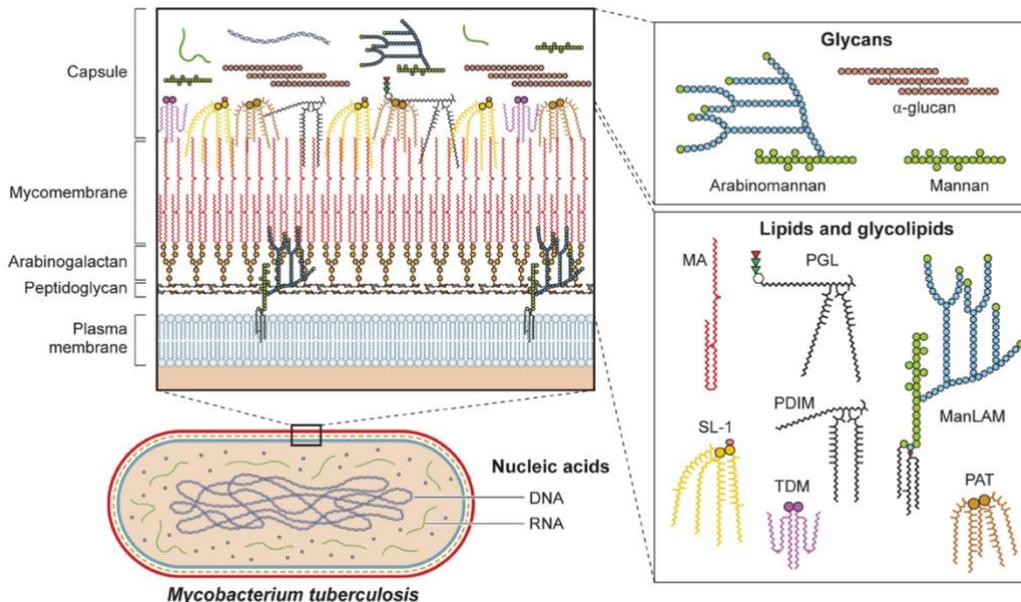


Figura 2. Representação esquemática da parede celular micobacteriana. Retirada de (13)

4.2 Fisiopatologia

Consideramos que o ciclo de vida de Mtb se inicia quando atinge as vias respiratórias, pois Mtb só sobrevive e persiste no interior de organismos vivos, não tendo um reservatório ambiental (Figura 3) (13). A aerossolização de Mtb acontece através de ações expiratórias vigorosas, tais como tossir, espirrar, gritar ou cantar por alguém infectado pela forma ativa ou primária de TB. Uma vez que as partículas infecciosas atinjam os sacos alveolares, as bactérias fixam-se e encontrarão os macrófagos alveolares, que iniciarão a fagocitose. Inicia-se, assim, a fase de estabelecimento da bactéria, do início da bacteremia e da resposta inflamatória inata (14).

Um dos recetores a qual Mtb se liga, recetor da manose, ativa uma cascata de sinalização intracelular que inibe a fusão do fagossoma com o lisossoma. Além deste recetor proteico, também muitos dos lípidos da parede celular acima mencionados (LAM, PIM, SL-1, TDM) iniciam processos para evadir o sistema imunitário e permitir a sobrevivência e replicação da bactéria no interior dos macrófagos. À medida que a infecção progride, é contínuo o recrutamento e acumulação de macrófagos, e de outros agentes imunológicos por estes estimuladas, como neutrófilos, células Natural Killer e até o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), um promotor da angiogénese, de recrutamento de monócitos, macrófagos e da inflamação. Este fator está envolvido na formação de granulomas e na disseminação da infecção (14).

Tudo isto culmina na formação do granuloma. Dentro deste tipo de estruturas características, o bacilo pode tornar-se inativo, mas sobrevive por longos períodos, contribuindo para a forma latente de TB. Ainda que o granuloma seja crucial para conter a infecção, também limita a penetração das células imunitárias e nutrientes, o que causa zonas necróticas no seu interior. A própria barreira física do granuloma e as condições interiores, como pH e níveis de oxigênio,

dificulta a eliminação completa das bactérias e a eficácia de tratamentos contra a TB, podendo levar ao desenvolvimento de resistência aos antibióticos (15).

Na ausência de tratamento, Mtb continua a estimular os neurónios nociceptivos das vias respiratórias, provocando uma tosse, característica da TB ativa. Esta tosse persistente atua como vetor de transmissão, permitindo que Mtb se liberte, e propaga a infecção. É dessa forma que Mtb pode renovar o seu ciclo de vida, num hospedeiro suscetível (13).

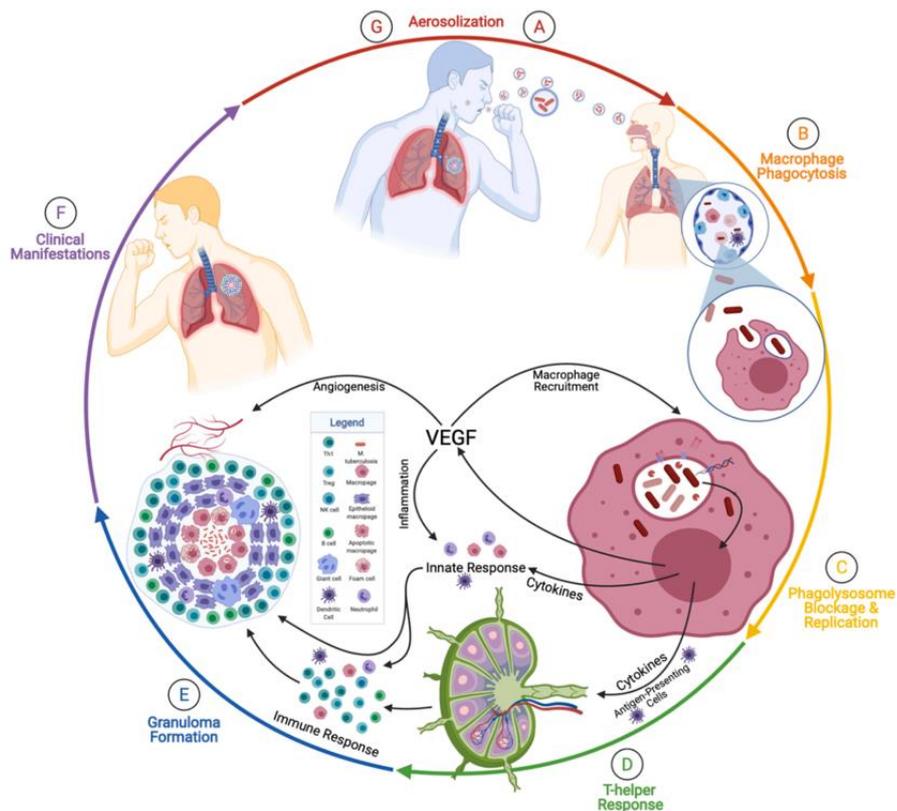


Figura 3. Sete passos da fisiopatologia da tuberculose ativa. Retirada de (14)

4.3 Manifestações clínicas

Existem dois tipos de TB em termos de relevância clínica: a primária e a secundária. Denominamos por TB primária a infecção ativa, isto é, a primeira vez que alguém adquire Mtb e o sistema imunitário não consegue controlar a infecção inicial, normalmente observada em indivíduos imunocomprometidos (14).

Porém, em alguns casos o sistema imunitário e o granuloma contêm a bactéria mas não a eliminam. Nesse caso, diz-se que a doença está latente, podendo evoluir para TB secundária posteriormente. Durante a fase latente da TB, as bactérias formam biofilmes protetores no interior do tecido necrótico. Uma imunossupressão subsequente reativa o Mtb dentro do granuloma.

A TB ativa pode apresentar-se de diversas formas. A apresentação mais comum, a TB pulmonar, afeta principalmente, como o nome indica, os pulmões. Os sinais e sintomas mais característicos são a febre, tosse persistente, sudorese noturna, perda de peso, cefaleias, astenia anormal e, em casos mais avançados, até hemoptise (16). A inespecificidade da sintomatologia pode levar a um diagnóstico errado de pneumonia, sarcoidose ou cancro do pulmão, atrasando o tratamento adequado (17).

A TB extrapulmonar ocorre quando há propagação do bacilo dos pulmões para outros órgãos, por via hematogénica, broncogénica e linfática. Geralmente restringe-se a um ou poucos órgãos específicos: os gânglios linfáticos são os mais comumente envolvidos, mas também já foram descritos casos envolvendo o sistema geniturinário, sistema gastrointestinal, pleura e sistema músculo-esquelético (16).

Já a TB miliar, outrora mais comum nas crianças, é outro tipo de TB extrapulmonar que acontece quando o granuloma se espalha sistemicamente e simultaneamente para vários órgãos. É possível encontrar as lesões miliares, inúmeras e de pequena dimensão, nos pulmões, fígado, baço, nódulos linfáticos, meninges, medula óssea e glândulas suprarrenais (14,16).

4.4 Diagnóstico

A microscopia de esfregaço de expectoração mantém-se um dos métodos básicos para identificar *Mtb*, especialmente em países com recursos económicos limitados. É um método rápido, pouco dispendioso e específico para este diagnóstico do *Mtb*, apesar de apresentar baixa sensibilidade e não conseguir distinguir entre bacilos vivos ou mortos. A pesquisa destes bacilos Álcool-Ácido Resistentes (BAAR) é convencionalmente feita através da coloração de Ziehl-Neelsen. Outros métodos microscópicos, como o fluorimétrico, surgem para colmatar algumas limitações, de eficiência ou sensibilidade, por exemplo (18).

O exame cultural, o método padrão recomendado pela OMS, é crucial tanto para o diagnóstico quanto para a deteção de resistência a fármacos. Pode ser feito em meio sólido (Lowenstein-Jensen) ou líquido (Middlebrook 7H9), com diferentes vantagens, menos dispendioso e menos suscetível de contaminação, e mais rápido e sensível, respetivamente (18).

O diagnóstico imunológico, mais utilizado para verificar TB latente, pode fazer-se através da deteção de antigénios, pelo método ELISA, em amostras biológicas como urina, sangue ou expectoração, ou através do teste de sensibilidade à tuberculina (TST), realizado na pele (19). As técnicas IGRA (Interferon Gamma Release Assays), como o QuantiFERON-TB Gold In-Tube ou LIOFeron TB/LTBI, consistem em análises sanguíneas que medem os níveis de IFN- γ após estimulação *in vitro* de linfócitos humanos com dois fatores de virulência de *Mtb*. Os IGRA têm mais sensibilidade e especificidade que os simples e mais económicos TST (13,20).

Adicionalmente, em determinados tipos de TB, por exemplo, pleural ou intestinal, poderá ser necessário complementar com endoscopia ou biopsia. (16) A radiografia do tórax, em particular, é um dos métodos mais valiosos para o diagnóstico da TB na população pediátrica (21).

4.5 Terapêutica

Sem tratamento, a taxa de mortalidade da TB é elevada, cerca de 50%. No entanto, com a terapêutica atualmente recomendada pela OMS, cerca de 85% das pessoas com TB podem ser curadas (1).

4.5.1 Antibacilares de primeira linha

O tratamento padrão recomendado para a TB sensível, pulmonar e extrapulmonar, em adultos, adolescentes e crianças consiste na administração de quatro antibióticos num esquema de 6 meses. O regime pressupõe uma fase intensiva de dois meses, com os quatro medicamentos antituberculosos – isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida – e uma fase de continuação de quatro meses, com apenas dois deles – isoniazida e rifampicina. Poderão ser necessários ajustes para populações especiais, como a pediátrica, grávida ou indivíduos co-infetados com HIV (22).

A seguinte tabela resume brevemente o esquema de tratamento para a TB sensível, ou seja, que ainda não desenvolveu resistência.

Tabela 1. Esquema terapêutico para TB sensível. Adaptada de (22)

	Fármacos	Posologia	DDM	Duração
Fase intensiva	Isoniazida (Inh)	4–6 mg/ kg/ dia	300 mg	2 meses
	Rifampicina (Rif)	8–12 mg/ kg/ dia	600 mg	
	Pirazinamida (Pza)	20–30 mg/kg/ dia	2000 mg	
	Etambutol (Emb)	15–25 mg/kg/ dia	1600 mg	
Fase de continuação	Isoniazida (Inh)	4–6 mg/ kg/ dia	300 mg	4 meses
	Rifampicina (Rif)	8–12 mg/ kg/ dia	600 mg	

DDM: dose diária máxima

4.5.2 Antibacilares de segunda linha

Tendo em conta que vários antibióticos antituberculosos são utilizados há mais de 60 anos, têm vindo a surgir estirpes de Mtb multirresistentes, com mutações em enzimas alvo ou nas vias de ativação destes fármacos (23). Estas estirpes apresentam diferentes níveis de resistência aos fármacos: mono-resistência, como a resistência apenas à rifampicina (TB-RR); poli-resistência ou multirresistência (TB-MR) definida como resistência a pelo menos dois dos mais potentes antibacilares, a isoniazida e a rifampicina (4,24). Ambas são elegíveis para tratamento com regimes de TB-MR atualmente recomendados pela OMS.

As mais recentes *guidelines* da OMS para o tratamento da TB-MR (25) destacam a importância da realização de testes de suscetibilidade aos antibióticos (TSA), que possibilitam a elaboração de planos terapêuticos individualizados. Sugere estratégias de gestão de efeitos adversos, bem como, o provável fármaco responsável. E, além disso, orienta para o uso de regimes de tratamento mais curtos, geralmente com duração de 6 a 9 meses, ainda que também forneça indicações para a escolha de fármacos no caso de necessidade de regimes mais longos. O objetivo de aumentar a adesão à terapêutica e reduzir efeitos secundários (um dos principais motivos para a interrupção do tratamento) alia-se a taxas de sucesso e maior eficácia demonstradas pelos regimes mais curtos em relação aos antigos mais longos.

O regime dos 6 meses presume, ou tem confirmado, que há sensibilidade a fluoroquinolonas e engloba bedaquilina, pretomanida, linezolid e moxifloxacina. No caso de resistência confirmada às fluoroquinolonas, a moxifloxacina pode ser omitida, pois não seria eficaz, e o tratamento seguiria com os três restantes fármacos (25).

O regime terapêutico de 9 meses, também para indivíduos onde foi excluída resistência a fluoroquinolonas, compreende bedaquilina (durante 6 meses), em associação com levofloxacina/ moxifloxacina, etionamida, etambutol, isoniazida (dose alta), pirazinamida e clofazimina (durante 4 meses, com a possibilidade de prolongamento para 6 meses se o doente continuar a ter baciloscopia positiva ao fim de 4 meses); seguido de tratamento com levofloxacina/ moxifloxacina, etambutol, pirazinamida e clofazimina (durante 5 meses). A etionamida pode ser substituída por 2 meses de linezolida (25).

Na tabela 2 encontra-se sumariado o esquema terapêutico para a TB multirresistente.

Tabela 2. Esquema terapêutico para TB-MR. Adaptada de (25)

	Fármacos	Posologia	DDM	Duração
Regime de 6 meses	Bedaquilina (Bdq)	400 mg/ dia (2 semanas), seguido de 200 mg 3x/semana		6 meses
	Pretomanida (Pa)	200 mg/ dia	200 mg	
	Linezolida (Lzd)	600 mg/ dia	1200 mg	
	Moxifloxacina (Mfx)*	400 mg/ dia	400 mg	
Regime de 9 meses	Bedaquilina (Bdq)	400 mg/ dia (2 semanas), seguido de 200 mg 3x/semana		6 meses
	Levofloxacina (Lfx) / Moxifloxacina (Mfx)	750-1000 mg/ dia (Lfx) ou 400 mg/ dia (Mfx)	1500 mg	
	Clofazimina (Cfz)	100 mg/ dia	100 mg	9 meses
	Etambutol (Emb)	15–25 mg/kg/ dia	1600 mg	
	Pirazinamida (Pza)	20–30 mg/kg/ dia	2000 mg	
	Isoniazida de alta dose (Inh-h)	15-20 mg/kg/ dia	900 mg	4 a 6 meses
	Etionamida (Eto) ou Linezolida (Lzd)	15–20 mg/kg/ dia (Eto) ou 600 mg/ dia (Lzd)	1000 mg ou 1200 mg	4 a 6 meses (Eto) ou 2 meses (Lzd)

DDM: dose diária máxima; *Mfx omitida em pacientes com resistência a fluoroquinolonas

Quando além de TB-MR, há resistência a qualquer fluoroquinolona e a pelo menos 1 de 3 agentes injetáveis (canamicina, amicacina ou capreomicina), ocorre TB extensivamente resistente aos fármacos (TB-XDR) (26).

4.5.3 Profilaxia para a TB

A implementação de terapêutica preventiva é uma estratégia que, além de contribuir para a redução da incidência de TB, também pode ajudar a controlar a disseminação das estirpes resistentes. Este tratamento é recomendado para todos aqueles em risco de desenvolver TB ativa: indivíduos com TB latente, todos os indivíduos HIV-positivos (independentemente de exposição prévia à TB ou do estado de tratamento antirretroviral), indivíduos em tratamento com terapias imunossupressoras, crianças com idade inferior a 5 anos que tenham sido

expostas e qualquer pessoa em contacto próximo com pessoas com TB, especialmente no caso de TB-MR.

Esta terapêutica profilática compreende antibióticos como isoniazida, rifapentina e rifampicina, cujos esquemas de administração podem ser de curto ou longo prazo. A vacina BCG (Bacillus Calmette-Guérin) é a única vacina indicada, nomeadamente em crianças pertencentes a grupos de risco, devido à sua eficácia na prevenção de formas graves de TB em zonas endémicas (27,28).

4.6 Mecanismos de resistência aos antibacilares

A resistência aos antibióticos é definida como uma característica genética que permite que uma população bacteriana sobreviva e se replique na presença de um antibiótico que, de outra forma, seria inibidor (28).

A Relational Sequencing TB Data Platform é uma base de dados que permitiu a agregar sequências genómicas de vários estudos num só lugar, destacando as principais mutações de resistência a fármacos e os resultados clínicos dos doentes. É uma ferramenta promissora por possibilitar aos seus utilizadores obter dados genéticos validados e clinicamente relevantes, e ainda facilitar e agilizar a análise de TSA (29).

Embora a adesão à terapêutica inadequada seja frequentemente apontada como causa da resistência, dados atuais sugerem que fatores como a farmacocinética individual, a penetração variável dos fármacos nas lesões tuberculosas e a utilização de regimes padrão na presença de resistência não diagnosticada aos fármacos serão mais impulsores deste fenómeno (30).

Essencialmente, podemos dividir em dois fatores principais a emergência de resistências: extrínsecos, externos ao organismo bacteriano e relacionados com os determinantes sociais da TB nas populações, a qualidade das ações de controlo e prevenção da TB; e fatores intrínsecos, que se referem às características, genéticas e bioquímicas da própria bactéria, que facilitam o surgimento e a persistência de mutações que conferem resistência aos fármacos (31). Estes últimos incluem:

4.6.1 Resistência genética

A principal causa da resistência em *Mtb* é a aquisição de mutações nos genes que codificam os alvos dos fármacos antibacilares ou as enzimas que os ativam. Noutras palavras, as mutações causam alterações na sequência genética ou na expressão dos genes que codificam alvos ou enzimas de ativação do antibiótico, impedindo o seu mecanismo de ação. Estas mutações apresentam-se principalmente sob a forma de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), inserções ou deleções. Ao contrário de outras bactérias, a resistência não é adquirida através da transferência horizontal de genes por elementos genéticos móveis (28,29). A resistência aos antibacilares de primeira e segunda linha está geralmente associada a mutações conhecidas em determinados loci (28).

Exemplos: Mutação no gene *rpoB* que codifica a RNA polimerase, o alvo da rifampicina. Mutação no gene *katG*, que codifica para a enzima do mesmo nome, necessária para a ativação da isoniazida.

4.6.2 Evolução compensatória

A aquisição de mutações associadas com resistência não tem custo zero para a bactéria, diminuindo o seu fitness, ou aptidão, pelo menos, numa fase inicial. É neste contexto que surge o processo de evolução compensatória, no qual as estirpes resistentes continuam a evoluir adquirindo uma ou mais mutações secundárias que visam compensar, melhorando ou mesmo restaurando o fitness de Mtb (29). Este processo foi observado *in vitro*, *in vivo* e em ensaios clínicos e pode ocorrer mesmo na ausência de pressão antibiótica (32). Como consequência, a evolução compensatória pode contribuir para uma estabilização da resistência aos fármacos na população, mesmo com suspensão do tratamento antibiótico (33).

Exemplo: Mutações no gene *ahpC* como compensação para a perda da atividade enzimática catalase-peroxidase em estirpes clínicas sem atividade *katG*, resultando na sua sobreexpressão (29).

4.6.3 Mecanismos defeituosos de reparação do DNA

Mutações que ocorram nos sistemas de reparação de DNA comprometem a eficiência com que o DNA danificado é reparado, aumentando as taxas de mutação e dessa forma, favorecendo bactérias com mutações que conferem resistência. Na família da estirpe de Beijing, identificaram-se mutações missense em genes antimutadores putativos (*mut*) e a exposição a concentrações subótimas de fluoroquinonas, demonstrou capacidade de induzir alterações transcricionais em genes responsáveis por mecanismos de reparação do DNA, como o mecanismo SOS. Ambos exemplos estão associados com taxas de mutação mais elevadas, no entanto, mais estudos são necessários sobre estes mecanismos para melhor compreensão da evolução adaptativa de Mtb (29).

4.6.4 Resistência induzida por bombas de efluxo

As bombas de efluxo são sistemas proteicos transmembranares envolvidos na expulsão de substâncias tóxicas da célula bacteriana, reduzindo a concentração intracelular dos fármacos e, conseqüentemente, a sua eficácia. Este mecanismo é, aliado à parede celular impermeável de Mtb, exemplo de resistência intrínseca (34). O bacilo de Koch apresenta um dos maiores números de bombas de efluxo putativas, com 148 genes a codificar para este tipo de proteínas. A contribuição destes sistemas de efluxo para a aquisição de multirresistência foi demonstrada por vários estudos (29).

Exemplo: A sobreexpressão de *jefA*, em estirpes recombinantes de Mtb, levou a um aumento das CMI de isoniazida e etambutol

5. Progresso

A TB é uma doença antiga. No Egito, há registos que remontam há mais de 5000 anos, sob forma de representações artísticas, ou presentes em múmias com as deformações típicas da doença. Na Grécia Antiga, era conhecida como “tísica” (6). Durante anos foi negligenciada. Só foram, finalmente, aumentados os esforços para a controlar quando, em 1991, a doença foi realmente reconhecida como um importante problema de saúde pública mundial pela Assembleia Mundial da Saúde (AMS). Em 1994, foi lançada a estratégia de controlo da TB recomendada internacionalmente, denominada DOTS (Directly Observed Treatment, short-course), que engloba cinco componentes principais: compromisso político, deteção de casos, quimioterapia padronizada de curta duração, sistema eficaz de fornecimento de medicamentos e sistema de monitorização. De forma a melhorar o acesso a fármacos de segunda linha para TB resistente, foram criados o Comité de Luz Verde e o Fundo Global de Medicamentos, no ano 2000. Até esse ano, a DOTS expandiu rapidamente e foi adotada por 148 países. No entanto, o progresso foi mais lento do que o esperado, e o objetivo de deteção de casos não foi atingido globalmente, principalmente por falta de compromisso político, levando a AMS a adiar a meta para 2005. Entre 1994 e 2005, a DOTS tratou 26,5 milhões de doentes, ainda assim, as metas globais de 2005 não foram alcançadas em todas as regiões (10).

Há uma forte correlação entre TB e pobreza. A diminuição das desigualdades de rendimento, aliada ao crescimento económico deverá ter um efeito sobre a epidemia da TB (1,10). Por essa razão, era e continua a ser necessário incorporar políticas para garantir que o acesso a serviços de saúde de qualidade comece a estar mais disponível para todas as populações desfavorecidas que têm uma incidência de TB mais elevada (10).

Quando em 2006, é anunciada a estratégia “Stop TB” pela OMS, a grande diferença foi o enfatizar do conceito de cuidados centrados no doente com TB, garantindo o acesso universal a cuidados adequados e de qualidade, independentemente da sua idade, sexo, situação socioeconómica, forma da doença, positividade da baciloscopia, da fase de HIV e da resistência aos fármacos (10).

A cronologia ilustrada na figura 4 permite visualizar a evolução desde o uso inicial da monoterapia, com estreptomicina, até o desenvolvimento de regimes combinados de curta duração, atualmente essenciais para tratar formas resistentes da doença. A maioria dos fármacos descobertos, desde a estreptomicina, continuam em utilização, ou pelo menos, a figurar nas fichas de informação da OMS (35). Entre a descoberta de Rif, em 1963, e a de Bdq, em 2012, nenhuma outra molécula foi introduzida. Quase cinquenta anos passaram sem inovação farmacológica.

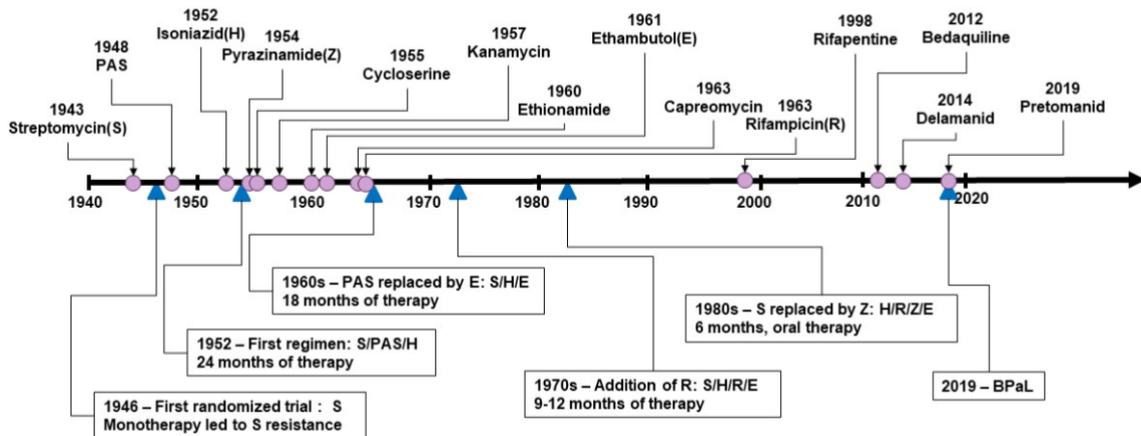


Figura 4. Cronologia da descoberta de fármacos utilizados no tratamento da tuberculose (cima) e principais regimes terapêuticos (baixo). Retirada de (36)

Por isso, a introdução da Bdq é um grande marco no desenvolvimento de antibacilares. Presentemente, há 17 novos fármacos em ensaios clínicos de fase I ou II, e 12 outros em fase de descoberta ou pré-clínica de desenvolvimento, como se pode observar na figura 5. A sua maioria são formulações orais, coadunando-se com as recomendações da OMS (37). Daqueles que estão a ser submetidos a ensaios clínicos, há 9 de novas classes químicas. Dos restantes fármacos, o TBAJ-587 e o TBAJ-876 são diarilquinolinas, semelhantes à Bdq, enquanto a delpazolida, sutezolida, tedizolid e o TBI-223 são oxazolidinonas, semelhantes à Lzd e à cicloserina (37,38). No momento da publicação, nenhum novo medicamento atingiu a fase III dos ensaios ou foi aprovado para regulamentação do mercado, desde a aprovação da pretomanida (Pa) em 2019 (38).

2024 Global New TB Drug Pipeline¹

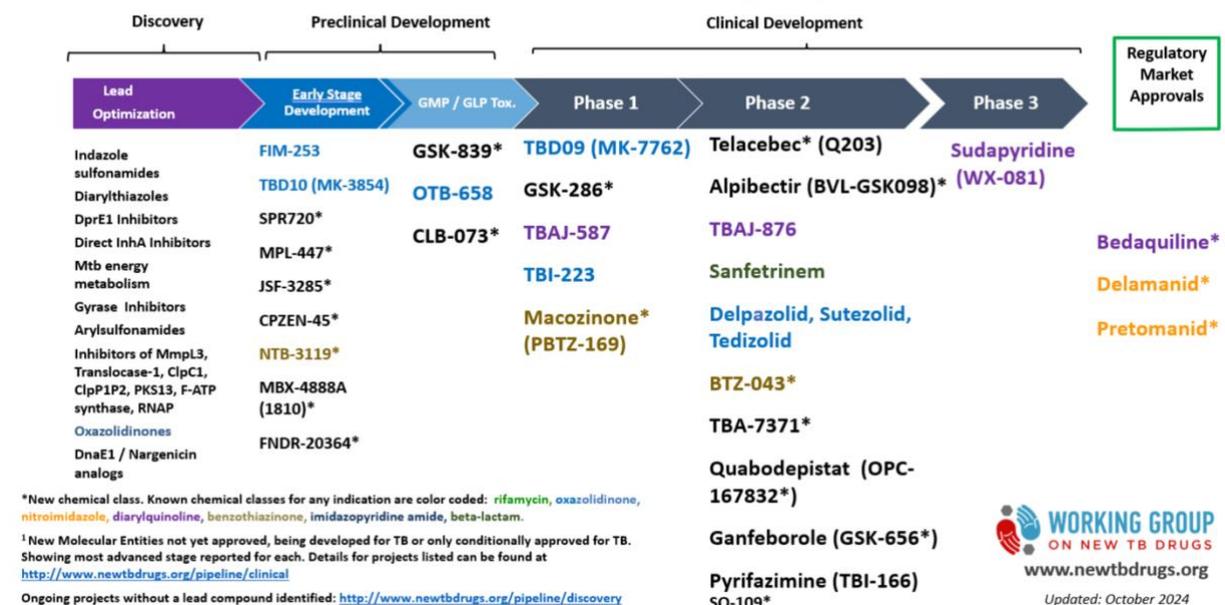


Figura 5. Pipeline de fármacos antibacilares, em ensaios clínicos e pré-clínicos. Retirada de (37)

5.1 Fármacos de primeira linha

Isoniazida

A isoniazida (Inh) é, até à data, considerada o antibiótico mais bactericida dos antibacilares de primeira e segunda linha (35). Apesar de ser tratamento de primeira linha, tanto contra TB ativa como TB latente, a Inh não é ativa contra o bacilo latente, exigindo longos períodos terapêuticos para evitar a progressão para a doença ativa. As suas vantagens assentam na considerável experiência clínica, conhecidos efeitos adversos e baixo custo (39).

Inh é um pró-fármaco que tem de ser convertido na sua forma ativa, isonicotinoílo, intracelularmente, pela enzima micobacteriana catalase-peroxidase, codificada pelo gene *katG*. Uma vez ativada, a isoniazida inibe a síntese de ácido micólico através da enzima NADH-dependente enoil-ACP redutase (ENR), codificada pelo gene *inhA* (29,40).

A resistência à isoniazida ocorre principalmente devido a mutações nos genes *katG* e *inhA* ou na região promotora do gene *inhA* (29,40). A forma mais comum de resistência, associada a elevada resistência, é a mutação *katG* S315T, que também se destaca por ser um possível marcador de fenótipo pré-TB-MR, uma vez que, estudos recentes indicam que a resistência à Inh geralmente precede a resistência à rifampicina. Outra mutação importante, que surge na região promotora do gene *inhA*, causa sobreexpressão do gene, levando a resistência de baixo nível à Inh e, frequentemente, à resistência cruzada com etionamida, um análogo estrutural (29).

A utilização de uma dose elevada de Inh, 600mg diários ao invés dos 300mg padrão, mostrou, em doentes com TB-MDR, taxas de conversão de cultura mais rápidas e maior probabilidade de sucesso do tratamento. Esta Inh de alta dose pode, inclusive, ser utilizada em casos de TB resistente à isoniazida, mesmo com mutações no gene *katG* (35,41).

Rifamicinas

A rifampicina (Rif) pertence à classe das rifamicinas, que inclui rifabutina, rifapentina e a rifaximina, derivados sintéticos da rifamicina SV, o produto natural de *Amycolatopsis mediterranei*. É um importante antibacilar de primeira linha e um dos antibióticos de largo espectro mais potentes. É especialmente eficaz contra agentes patogénicos intracelulares como o Mtb, por se difundir livremente nos tecidos, células vivas e bactérias (42).

A Rif, ao contrário da maioria dos antibióticos, que requerem crescimento e atividade metabólica, inclui-se numa categoria particular (à qual pertencem também a pirazinamida, moxifloxacina e a bedaquilina) que atua contra bacilos Mtb latentes (43).

O seu mecanismo de ação baseia-se na inibição da transcrição do mRNA bacteriano através da ligação à subunidade beta da RNA polimerase (RNAP) bacteriana, apresentando pouca ou nenhuma atividade sob as RNA polimerases humanas (44).

A resistência à rifampicina é mediada por mutações nos codões 507–533 do gene *rpoB*, que codifica a subunidade beta da RNAP. Esta região é conhecida como a "região determinante da resistência à rifampicina", sendo o alvo principal de testes moleculares modernos e responsável por 96% dos casos de resistência à rifampicina. Outras mutações no *rpoB* também podem levar a resistência cruzada com outros antibióticos desta classe, como rifabutina. Aliás, a resistência isolada à rifampicina é rara, normalmente ocorrendo em

conjunto com resistência a outros fármacos, em especial, a isoniazida. Assim, a rifampicina funciona como marcador substituto do fenótipo MR (multirresistente) (29).

Etambutol

O etambutol (Emb) atua na parede celular, inibindo a síntese do arabinogalactano e do lipoarabinomanano. O Emb bloqueia a polimerização das subunidades de arabinose na camada de arabinogalactano da parede celular, o que leva à perda da camada de AM. A sua ação é predominantemente bacteriostática (35,45).

A resistência ao etambutol acontece principalmente por mutações no gene *embB*, especificamente no codão 306, que codifica o aminoácido metionina, e resultam na substituição de metionina por outros aminoácidos, como leucina ou valina. Estas alterações afetam a enzima arabinosil transferase, codificada pelo *embB*, que é crucial para a síntese da parede celular bacteriana. Este codão pode predispor a bactéria a desenvolver resistência a outros fármacos, sem estar necessariamente envolvida diretamente na resistência ao etambutol. Estima-se que cerca de 30% dos isolados resistentes ao etambutol não apresentam alterações no gene *embB*, sugerindo a existência de um mecanismo de resistência diferente. Mutações adicionais no gene *ubiA*, envolvido na síntese da parede celular e específico de certas linhagens, têm sido relatadas como causadoras de alta resistência ao etambutol quando ocorrem juntamente com mutações no *embB* (29).

Pirazinamida

A pirazinamida (Pza) é um análogo da nicotinamida e desempenha um papel fundamental no encurtamento da terapêutica contra a TB, pois tem função bactericida e é capaz de eliminar os bacilos latentes. Por esta razão, e por ser sinérgica com os fármacos existentes e novos, é importante a sua inclusão nas terapêuticas combinadas, quer contra a TB não resistente, quer TB-MR, ainda que a sua tolerância seja variável (35,46,47).

A Pza tem uma ação diferente dos antibióticos comuns, inibindo múltiplos alvos, como a produção de energia, a trans-tradução (processo que remove produtos proteicos tóxicos formados em condições de stress) e, talvez, o pantotenato/coenzima A, necessário para a sobrevivência dos bacilos latentes (47).

A Pza é um pró-fármaco que requer a conversão em ácido pirazinóico pela enzima bacteriana pirazinamidase/ nicotinamidase, codificada pelo gene *pncA*. Esta conversão dá-se em condições ácidas (pH 5,5) promovidas pela inflamação no granuloma (47,48).

As mutações no gene *pncA* e na sua região promotora são o mecanismo mais comum de resistência à Pza. Outros mecanismos de resistência sugeridos são a sobreexpressão do gene *rpsA* ou mutações no gene *panD*. Alguns estudos incentivam a inclusão de mutações *panD* nos testes de triagem para melhorar a deteção da resistência à pirazinamida (29).

5.2 Fármacos injetáveis de segunda linha

A estreptomicina, um antibiótico da classe dos aminoglicosídeos, foi o primeiro medicamento a ser utilizado no tratamento da TB (29). Liga-se irreversivelmente à subunidade menor, 30S,

do ribossoma bacteriano, conduzindo a erros ou inibição de tradução das proteínas e também à rutura da membrana citoplasmática (35).

Nos anos 50, a canamicina e a capreomicina foram descobertas e desenvolvidas devido tanto à sua atividade de amplo espectro como à eficácia contra a TB resistente à estreptomicina; mais tarde, nos anos 80, surge a amicacina (49). À exceção da capreomicina, um peptídeo cíclico, os restantes antibióticos são da classe dos aminoglicosídeos, como a estreptomicina. Todos partilham o mesmo mecanismo de ação geral de inibição da síntese proteica e, por consequente, do crescimento bacteriano. No entanto, no caso da capreomicina, estão envolvidas as duas subunidades ribossômicas bacterianas e não apenas a subunidade 30S (35).

As mutações do Mtb associadas à resistência aos fármacos injetáveis são menos estudadas, em comparação com as mutações associadas à resistência aos antibacilares de primeira linha. Ainda assim, sabe-se que essas mutações estão associadas a quatro genes principais: o mais estudado, gene *rrs*, que codifica para o rRNA 16S; o gene *tlyA*; o promotor *eis* e ainda o gene *gidB* (29,50).

Uma vez que estes fármacos não têm absorção oral significativa, são administrados por via intravenosa ou intramuscular (35). Desde, pelo menos, 1997 que figuram nas orientações internacionais para o tratamento da TB-MR (49). Contudo, em recentes anos, novas recomendações surgiram como resultado de meta-análises de dados individuais, e desde 2018 que a OMS recomenda regimes totalmente orais em detrimento de regimes com injetáveis (1,51). A razão para esta mudança deve-se a mais elevadas taxas de sucesso do tratamento totalmente oral, bem como à redução dos efeitos adversos graves, como ototoxicidade e nefrotoxicidade, à simplificação logística de administração e melhoria na adesão à terapêutica (52). Os países mais afetados por TB-MR, como a Índia, também estão fortemente associados a doentes mais pobres, que têm menos probabilidades de aceder ao diagnóstico e aos cuidados que a TB requer, especialmente se incluir mobilização para administração de injetáveis (53).

Entre os vários fármacos desta categoria, a amicacina e a estreptomicina estão associados a melhores resultados do que a administração de nenhum injetável ou de canamicina ou capreomicina. Por essa razão, deverão ser privilegiados em doentes suscetíveis a estes agentes, que necessitem de tratamento parentérico (49). São mesmo os únicos aminoglicosídeos que constam nas fichas de informação de antibacilares da OMS, do ano de 2022 (35).

5.3 Fármacos em ensaios clínicos e pré-clínicos

Fluoroquinolonas

As fluoroquinolonas são uma classe de antibióticos bactericidas potentes, e de amplo espectro. Em regimes para a TB-MR, são utilizadas as fluoroquinolonas de terceira geração, como a moxifloxacina e a levofloxacina. Quando estes compostos se ligam ao seu alvo, duas enzimas bacterianas essenciais, a DNA girase (topoisomerase II) e a DNA topoisomerase IV, forma-se um complexo. A porção de DNA no complexo é quebrada e a consequência é a inibição

reversível da sua replicação. A morte celular resulta de eventos subsequentes em que os cromossomos bacterianos são fragmentados através de duas vias mal compreendidas (54).

A resistência às fluoroquinolonas tem sido associada a mutações que ocorrem nos genes *gyrA* e *gyrB*, que codificam para as DNA girases. Mais frequentemente, as mutações acontecem no *gyrA*, sendo que quando ocorrem duplamente em *gyrA* e *gyrB*, a resistência é mais alta (29). Caso esta se demonstre, o seu uso torna-se obsoleto e há uma drástica redução de opções de tratamento para a TB-MR, uma vez que estes fármacos são dos principais nos regimes padrão de segunda linha. Restam opções de tratamentos mais prolongados, mais tóxicos ou menos eficazes. Por outras palavras, a resistência às fluoroquinolonas está associada a um pior prognóstico (8).

De momento, a moxifloxacina (Mfx) encontra-se em ensaios clínicos de fase II e III, incluída num regime que combina moxifloxacina com bedaquilina, pretomanida e pirazinamida (55).

Diarilquinolinas

A bedaquilina (Bdq) é o primeiro medicamento de uma nova classe de fármacos, as diarilquinolinas, a ser utilizado no tratamento da TB. Tem como alvo o metabolismo interno de Mtb, pela inibição da ATP sintase micobacteriana, deixando a bactéria sem fonte de energia para a replicação. É também ativa contra bacilos dormentes, que precisam de ATP para manter a latência (29,35).

Mutações em alvos no gene *atpE* descritas em estirpes selecionadas *in vitro* foram associadas a alta resistência à bedaquilina, com um aumento de até 4 vezes na concentração mínima inibitória (CMI). Outras mutações, como no *rv0678*, resultam na regulação positiva da bomba de efluxo MmpL5, resultando numa resistência de baixo nível à bedaquilina e numa resistência cruzada à clofazimina (29).

Aquando das fases de investigação, a segurança clínica cardíaca da Bdq era uma preocupação, nomeadamente o potencial risco de prolongamento do intervalo QT. Porém, a experiência da última década sugere um perfil de segurança relativamente favorável. Idealmente, deverá existir monitorização, antes e durante o tratamento, através da realização de eletrocardiogramas (35,56).

Dentro da classe das diarilquinolinas, TBAJ-587 e TBAJ-876 são duas novas moléculas, análogas à Bdq, candidatas a antibacilares. TBAJ-587 tem maior potência *in vitro* do que a Bdq, incluindo contra mutantes resistentes Rv0678, e pode oferecer maior margem de segurança (57). Por outro lado, TBAJ-876 está numa fase de desenvolvimento mais avançada e apresenta-se como uma alternativa à Bdq. Quando comparados, TBAJ-876 supera: tem atividade bactericida contra Mtb em doses mais baixas, é menos lipofílico, permanecendo menos nos tecidos, o que o torna mais seguro; menor inibição dos canais de potássio hERG, associado a um risco reduzido de prolongamento do intervalo QT (58,59).

Etionamida e Protionamida

A etionamida e a protionamida, um análogo propílico da etionamida, são ambas tioamidas; de eficácia semelhante e consideradas permutáveis. A etionamida está, porém, mais amplamente disponível. São derivados do ácido isonicotínico, análogo estrutural da isoniazida, e maioritariamente bacteriostáticas. A OMS não recomenda o seu uso em regimes

mais longos de TB-MR, reservando-os para situações em que não possam ser utilizados agentes mais eficazes, como a Bdq, linezolida ou clofazimina (35).

Como outros fármacos antibacilares, estes também precisam de ativação enzimática pela EthA micobacteriana, para que o metabolito ativo iniba a enzima inhA, responsável pela síntese do AM, com um mecanismo semelhante ao da isoniazida. Por essa razão, é observada resistência cruzada parcial entre a etionamida/ protionamida e a isoniazida devido a mutações no gene *inhA* (60).

Nitroimidazóis

A delamanida e a pretomanida são estruturalmente semelhantes e pertencem à classe dos nitroimidazóis. Ambas são pró-fármacos, requerendo bioativação pela nitro-reductase dependente da deazaflavina, codificada pelo *ddn*. O mecanismo de ação da delamanida consiste na inibição da síntese de AM da parede celular. (26,29) Já o mecanismo da pretomanida, além de envolver inibição dos AM, também é responsável pela indução de óxido nítrico, que envenena a célula mesmo em condições anaeróbicas, matando assim as bactérias ativas e latentes (35).

As mutações que causam resistência à delamanida e pretomanida e estão associadas aos genes que regulam a ativação do pró-fármaco, *ddn* e outros como *fgd1*, *fbiA*, *fbiB* e *fbiC* (29).

A pretomanida encontra-se na fase IV de desenvolvimento de formulações pediátricas; ensaios clínicos de fase II, BPaMZ/SEM e NC-009, e de fase III, TB PRACTECAL, SimpliciTB, ZeNix (55).

É importante notar que a administração concomitante de delamanida com Bdq implica a monitorização cardíaca, via eletrocardiograma, uma vez que ambas podem prolongar o intervalo QT (56).

Oxazolidinonas

A linezolida (Lzd), uma oxazolidinona, foi o primeiro antibiótico da sua classe a ser aprovado para o tratamento da TB. Ao ligar-se ao ribossoma bacteriano, a Lzd impede a síntese proteica (35). A resistência à linezolida tem sido associada a mutações no gene *rrl*, que codifica para a subunidade 23S rRNA e a mutações no gene *rpIC*, que codifica a proteína ribossômica L3 50S (29).

Outros fármacos desta classe, como a sutezolida, delpazolida, tedizolida, TBI-223, entre outros, parecem ter uma atividade bactericida semelhante à da Lzd contra o Mtb, embora possam não partilhar os mecanismos de resistência (61).

A Tedizolida está aprovada para o tratamento de doenças bacterianas agudas da pele e tecidos moles e é menos dispendiosa que a Lzd (62). Delpazolida e sutezolida foram bem toleradas consideradas seguras e tem um perfil de segurança superior ao de Lzd. TBI-223 está em fase I, de modo a averiguar características farmacocinéticas, segurança e tolerabilidade (62).

SQ109

SQ109 é uma etilenodiamina análoga de etambutol, mas com mecanismo de ação diferente. É um estabelecido inibidor de MmpL3, proteína membrana de transporte essencial em Mtb (63). Ao inibir o transporte de monomicolatos de trealose (TMM), precursor da TDM, SQ109 impede a ligação de ácidos micólicos à parede, que fica comprometida e logo, mais suscetível aos tratamentos (64). Está em fase II de desenvolvimento (37).

Telacebec

No processo de obtenção de energia, a célula depende de uma cadeia transportadora de elétrons. Uma das subunidades dessa cadeia é o complexo QcrB, que tem ligação para uma das principais moléculas de transporte, a menaquinona. Os inibidores de QcrB, como é o caso do telacebec, ligam-se ao complexo e impedem a ligação da menaquinona, impedindo o gradiente de prótons e logo a produção de ATP (65). Muitos dos outros fármacos em desenvolvimento são classificados de forma semelhante aos já existentes, partilhando mecanismos de ação, o que impede a sua substituição ou adição em lugar de outros já não eficazes, por razões de resistência ou toxicidade. Neste âmbito, o telacebec seria uma conquista interessante, enquanto novo mecanismo (38).

Se os ensaios clínicos em curso continuarem a refletir o que até aqui se demonstrou, aumento das taxas de eliminação da expeção e níveis de reações adversas comparáveis aos dos antibióticos aprovados atualmente, a sua aprovação é provável (38).

5.4 Reaproveitamento de Fármacos

Clofazimina

Em 1957, quando foi pela primeira vez descrita, a clofazimina (Cfz) era para ser utilizada como fármaco antituberculoso, mas não teve êxito em primatas nem humanos, enquanto monoterapia. Em 1981, voltou a ser recomendada pela OMS, mas desta vez, contra a lepra (66). Só, em 2010, se mostrou eficaz contra a TB-MR, quando combinada num regime com gatifloxacina, etambutol e pirazinamida (67).

A Cfz é uma iminofenazina que tem como alvo a parede celular de Mtb. Devido à elevada lipofilia e ao potencial redox da Cfz, há interferência com a força motriz dos prótons, conduzindo a efeitos de destabilização da membrana e, por conseguinte, redução do ATP disponível para os processos celulares (35,66).

Foi observada resistência cruzada entre a Bdq e a Cfz através de resistência mediada por bombas de efluxo. O sistema de efluxo MmpL5, codificado pelo *rv0678*, é o principal mecanismo de resistência à Cfz (66).

Beta-Lactâmicos

Os beta-lactâmicos são dos antibióticos mais utilizados, mais seguros e com maior impacto na medicina (68). Interferem com a síntese da parede celular micobacteriana, em particular na camada de peptidoglicanos, exclusiva das células procarióticas (35,68). Dentro desta classe, a subclasse dos carbapenemos tem sido preferida como tratamento complementar da

TB-MR por eficazmente inibir as transpeptidases, o tipo predominante de peptidoglicanos em Mtb (26). Os carbapenemos recomendados pela OMS são o iminipenem e o meropenem (25).

Mtb exprime beta-lactamases, a mais relevante sendo a BlaC, que são o determinante principal da resistência a este tipo de fármacos, e cuja ação se pode inibir com a adição de um inibidor da beta-lactamase, como o ácido clavulânico, tazobactam ou sulbactam (26). Na prática, iminipenem ou meropenem são administrados com amoxicilina-ácido clavulânico, uma vez que este só está disponível em formulações combinadas com amoxicilina (25). Este dois antibióticos não têm absorção oral, pelo que são administrados por via IV (35).

Outro beta-lactâmico oral, sanfetrinem, originalmente desenvolvido para tratar infeções respiratórias, vem colmatar esse problema. Também inibe a formação da parede celular e demonstrou, entre todos os compostos testados, a maior atividade bactericida contra Mtb H37Rv. Está, atualmente, em estudos clínicos de fase II para o uso contra a TB, apesar de ter já historial de segurança clínica (4,37).

Nitazoxanida

Originalmente desenvolvida e comercializada como um antiparasitário, a nitazoxanida foi, mais tarde, identificada como um antiviral de largo espectro e reutilizada para o tratamento da gripe. Estudos indicam também que é ativa *in vitro* contra bacilos ativos e latentes de Mtb (69). Esta molécula é uma tiazolida, que inibe a piruvato-ferredoxina oxidorreductase, uma enzima crucial para o metabolismo energético de vários patógenos. De modo particular, em Mtb, este fármaco interfere na homeostase do pH e na integridade da membrana celular, podendo ter ainda outros mecanismos de ação (70,71).

Inibidores do DprE1

DprE1, ou decaprenilfosforil-D-ribose-2'-epimerase, é uma flavoenzima que catalisa o primeiro passo da conversão da DPR em DPA, que é o precursor dos componentes essenciais da parede celular micobacteriana, os arabinanos. A DprE1 catalisa um passo chave de epimerização, a conversão de DPR em DPX, reduzindo FAD a FADH₂. Seguidamente, a DprE2 catalisa a formação de DPA a partir de DPX (72). A localização celular de DprE1 no periplasma é uma grande vantagem, pois significa que fármacos que a tenham como alvo escaparão à ação das bombas de efluxo, retenção intracelular e outros potenciais mecanismos de inativação citoplasmática que podem conferir resistência intrínseca (73). Quatro novos compostos inibidores desta enzima estão atualmente em desenvolvimento (37).

BTZ-043 e Macozinone (antes PTBZ-169) pertencem à classe das benzotiazinonas, BTZ-043 foi o primeiro a ser classificado e está mais avançada na pesquisa. É um dos inibidores mais potentes de Mtb já descritos, apresentando uma atividade bactericida a uma CMI nanomolar de 0,23 nM, tanto *in vitro* como em modelos *ex vivo* de TB. Apesar da sua excecional potência, BTZ043 não se comportou tão bem *in vivo* como *in vitro* devido à sua elevada lipofilicidade. Macozinone é uma optimização mais hidrofílica de BTZ-043. A sua CMI é ligeiramente superior mas, em modelos murinos, provou ser mais ativo do que BTZ-043 (74).

TBA-7371 é um 1,4-azaindole, identificado como um inibidor não covalente da DprE1. Esta classe mata o Mtb *in vitro* e demonstra eficácia em modelos de ratos. Tem ainda potencial para utilização na TB suscetível e TB-MR (75). OPC-167832 é um derivado de 3,4-dihidrocarbostiril que tem atividade bactericida contra o Mtb H37Rv semelhante à da Rif mas

superior à da Bdq. Demonstrou ter efeito terapêutico em doses mais baixas que outros inibidores DprE1 e também maior distribuição nos pulmões que Macozinone. A combinação de OPC-167832 com outros antibacilares, especialmente com delamanida, Mfx e BdqBDQ, apresentou excelentes resultados na prevenção de recidivas num modelo de TB em ratinho (76).

Estes compostos, e todos os acima referidos, encontram-se sumarizados na tabela 3.

Tabela 3. Perfil de compostos promissores na terapêutica da TB-MR. Adaptada de (4,24,35,77)

Classe farmacológica	Composto	Mecanismo de Ação	Progresso
Rifamicinas	Rifampicina (dose elevada)	Inibe a síntese de RNA por inibição do rpoB	Fase II
Fluoroquinolonas	Levofloxacina	Atua na replicação do DNA por inibição da DNA girase	Fase II
Diarilquinolinas	Bedaquilina	Inibe a ATP sintase micobacteriana	Aprovado
	TBAJ-587	Inibe a ATP sintase micobacteriana e os canais de cálcio hERG	Fase I
	TBAJ-876	Inibe a ATP sintase micobacteriana	Fase II
Nitroimidazóis	Delamanida	Inibe a síntese do ácido micólico	Aprovado
	Pretomanida		
Oxazolidinonas	Delpazolida	Inibem a síntese proteica	Fase II
	Sutezolida		
	Tedizolida		
	TBI-223		
Etilenodiamina	SQ109	Inibe MmpL3	Fase II
Imidazopiridina	Telacebec	Inibe QcrB	Fase II
Beta- Lactâmicos	Sanfetrinem	Inibe a síntese do peptidoglicano	Fase II
Tiazolida	Nitazoxanida	Perturba o potencial de membrana e da homeostase do pH	Fase II
Benzotiazinonas	BTZ-043	Inibem DprE1	Fase II
	Macozinone (PTBZ-169)		Fase I
1,4-azaindole	TBA-7371		Fase II
Derivado de 3,4-dihidrocarbostiril	OPC-167832		Fase II

5.5 Terapias dirigidas ao hospedeiro

Alguns dos novos antibacilares em estudo levantam preocupações quanto aos seus perfis de segurança e, provavelmente, também serão suscetíveis ao desenvolvimento de resistência. As terapias dirigidas ao hospedeiro (HDT) surgem como uma nova oportunidade de tratamento da TB, que podem ser administradas em combinação com outros regimes antibióticos e que não têm problema quanto à emergência de resistência à terapêutica, uma vez que atuam diretamente em vias do hospedeiro (78). As HDT são pequenas moléculas ou agentes biológicos capazes de interferir nos mecanismos do hospedeiro que o patógeno

utiliza para sua replicação, sobrevivência e persistência e de modular a resposta imunitária e inflamatória, estimulando os mecanismos imunológicos de defesa do hospedeiro (79). Entre as vantagens destas terapias estão a redução do tempo de tratamento, a melhoria na adesão dos pacientes, a diminuição da patologia pulmonar e a redução da toxicidade e incapacidade funcional a longo prazo (80).

Várias vias-alvo das HDT têm sido caracterizadas: autofagia, colesterol, eicosanóides e granuloma. Também várias moléculas, desde novas, a reaproveitadas, têm sido alvo de estudo enquanto HDT contra a TB-MR (78). CC-11050, novo composto anti-inflamatório, e everolímus e colecalciferol, compostos já conhecidos, encontram-se em ensaios clínicos de fase II (37).

CC-11050 é um inibidor da PDE4, uma família de fosfodiesterases de nucleótidos cíclicos que desempenham um papel fundamental na sinalização intracelular, hidrolisando seletivamente os segundos mensageiros cAMP, em células do hospedeiro como leucócitos, macrófagos, neutrófilos e linfócitos (81,82). O bloqueio da hidrólise de cAMP pelo CC-11050, resulta na acumulação de cAMP e regulação negativa da inflamação (79,82). Outros análogos inibidores da PDE4 são, por instância, utilizados no tratamento da asma e DPOC, dado a sua correlação à inflamação. Os resultados de um estudo em coelhos mostraram o potencial do CC-11050 como adjuvante da quimioterapia antibacilar (81).

Everolímus, é um análogo da rapamicina, um composto bastante estudado e comumente utilizado como imunossupressor e anticancerígeno. As suas estruturas, alvo e ação são semelhantes: inibem mTOR (o alvo da rapamicina em mamíferos), que por sua vez, promove a autofagia, processo que auxilia a eliminação de Mtb. Além de ter sido desenvolvido de forma a superar a baixa biodisponibilidade oral observada em certos regimes com rapamicina, everolímus também mostrou maior impacto na modulação da autofagia, estimulando mais citocinas, como IFN- γ , TNF- α , IL-2 e principalmente a IL-6, aumentando a capacidade dos macrófagos de eliminar Mtb e reduzindo a inflamação excessiva que danifica os tecidos (83). Um estudo demonstrou que everolímus diminuiu significativamente a viabilidade de Mtb nos granulomas *in vitro* (84). Outro estudo mostrou boa tolerância ao everolímus e evidência de benefícios na função pulmonar (85).

Colecalciferol, considerada uma forma inativa de vitamina D, é uma molécula lipossolúvel que, devido à sua estrutura, atua mais como uma hormona. Embora seja mais conhecida como reguladora da homeostase do cálcio e ossos, tem diversas funções celulares adicionais, afetando desde a diferenciação à morte celular, por isso, impactando diversos sistemas do organismo (86,87). A vitamina D é convertida, no fígado, em calcidiol (25-hidroxitamina D [25(OH)D]), que depois sofre 1 α -hidroxilação, no rim, pela enzima CYP27B1 do citocromo P450 para formar calcitriol (1,25-di-hidroxitamina D [1,25 (OH)2D3]), a forma ativa (86). Na infecção por Mtb, o calcidiol, o principal metabolito circulante, apoia a indução da resposta imunitária inata, provocando a restrição do crescimento de Mtb. Já o calcitriol exerce a sua atividade antimicrobiana modulando os intermediários reativos de oxigênio, induzindo péptidos antimicrobianos e a autofagia (88). Um estudo concluiu que há uma alta prevalência (superior a 80%) de deficiência de vitamina D entre pacientes recém-diagnosticados com TB e os seus contatos domiciliares (89). Porém, ainda há resultados divergentes relativamente ao impacto da vitamina D enquanto terapêutica adjuvante em doentes com TB, pelo que, continua em estudo (88).

5.5 Imunoterapias

A utilização de vacinas terapêuticas para tratar a TB foi sugerida, pela primeira vez, por Robert Koch em 1890. As injeções, conhecidas como tuberculina velha, consistiam no sobrenadante de culturas de *Mtb*, e não surtiram o efeito desejado. Uma versão deste teste deu origem ao teste TST (90). A posterior BCG, vacina viva atenuada de uma estirpe de *M. bovis*, mantém-se a única vacina aprovada contra a TB desde 1921. Porém, o seu uso é numa perspetiva de prevenção e não tratamento (91).

Há dois domínios em que a imunoterapia deve ser aplicada. Um é o da imunomodulação, exemplificado pela imunoterapia com *Mycobacterium vaccae* inativada por calor, que fortalece a defesa do hospedeiro contra *Mtb*, promovendo a resposta dos linfócitos Th1 e suprimindo a resposta dos Th2. O outro domínio consiste na eliminação de “persistentes” após um ciclo de tratamento, ou em casos de TB latente que não evoluíram para doença clínica, casos em que a vacina RUTI pode ser mais eficaz (90).

RUTI é uma vacina poliantigénica, que expõe o hospedeiro a fragmentos purificados e inativados de bacilos de *Mtb*, cultivados em condições de stress de forma a induzir antígenos de latência, e veiculados em lipossomas. Até agora, esta vacina demonstrou-se segura e imunogénica, em ensaios clínicos de fase I e II, com voluntários saudáveis e com TB latente (90,92,93).

Este subcapítulo destaca os progressos da investigação na imunoterapia da TB, incluindo substâncias imunoativas, vacinas terapêuticas, agentes químicos e terapias celulares, em particular, aqueles em ensaios clínicos e/ ou testados em humanos (Tabela 4).

Tabela 4. Imunoterapias para o tratamento da tuberculose em seres humanos. Adaptada de (92,94)

Tipo	Nome	Composição	Mecanismo Imunitário	Efeito Imunoterapêutico	Tipo de TB alvo (Resultado)	
Vacinas terapêuticas	Vacinas inativadas contra a tuberculose	<i>Mycobacterium vaccae</i>	Inativada por calor	Melhorar função imunitária celular dos doentes com infeção anti-TB	Melhorar taxa de negatividade do esfregaço de expetoração	Meta-análise de 54 estudos sobre a TB pulmonar recentemente diagnosticada (melhoria da conversão da expetoração e das alterações radiográficas)
			Cápsula			Conversão de esfregaço mais rápida
		RUTI	Fragmentos celulares purificados de <i>Mtb</i>	Induzir uma resposta mista Th1/ Th2/ Th3, poliantigénica, sem toxicidade local ou sistémica	A utilização direta de RUTI provoca danos imunitários; induz resposta imunitária na TB latente	Ensaios clínicos de fase I e II em casos de TB latente ou voluntários saudáveis (imunogénica, tolerabilidade razoável)
		<i>Mycobacterium indicus pranii</i> (MIP)	Inativada por calor	Induzir recetores TLR para ativar imunidade inata e estimular a resposta dos linfócitos T	Melhorar a conversão negativa da expetoração, teve reações adversas (pericardite, sarcoma de Kaposi)	
Terapia celular	Células estaminais mesenquimais (MSC) autólogas	MSC	Vantagens imunitárias, anti-inflamatórias, de promoção da regeneração dos tecidos e de baixa imunogenicidade, mas podem ativar o <i>Mtb</i> adormecido e contribuir para fuga imunitária	Esfregaço de expetoração negativo; cavidade pulmonar estreitada ou fechada; aumento significativo da taxa de cura, mas pode causar TB extrapulmonar	MR ou XDR (melhoria radiológica)	

Substâncias imunoactivas	Citocinas inibidores de citocinas	IL-2	Promover a proliferação e a transformação das células T CD4+ e das células NK	Melhorar a conversão negativa da expectoração; alterações radiográficas não significativas	Doentes com TB-MR (melhor taxa de conversão da expectoração, diminuição nas contagens de baciloscopia), novos doentes com TB (atrasos significativos na conversão de culturas)
		IFN- γ	Ativar macrófagos para segregar TNF- α e NO, aumentar o efeito de morte dos fagossomas e lisossomas no Mtb	Limitar a proliferação do Mtb <i>in vivo</i>	Novos doentes com TB (atrasos significativos na conversão da cultura); doentes com TB-MR (baciloscopias negativas/melhoradas); casos de TB-MR (sem efeito microbiológico marcado) casos de TB-HIV positivos (conversão de cultura mais rápida)
Agentes químicos	Fármacos anti-helmínticos	Levamisol			Doentes recém-diagnosticados com TB pulmonar (melhoria da radiologia, mas sem efeito na conversão da baciloscopia)
		Albendazol			Doentes recém-diagnosticados com TB pulmonar (sem efeito nos resultados clínicos, radiológicos e microbiológicos)
	Imunossupressor	Talidomida			HIV-positivos (alguns com melhoria clínica, outros sem diferença)

A imunoterapia tem um grande potencial para prevenir a ativação de Mtb latente e para tratar doentes com TB ativa, mesmo TB-MR ou TB-XDR (94). A redução do enorme reservatório de Mtb, suscetível ou não a antibacilares, através destas estratégias e de HDT poderia, em última análise, acelerar a eliminação da doença (90).

6. Desafios

O primeiro desafio que a terapêutica antibacilar encontra é o próprio diagnóstico. A OMS estimou que mais de três milhões de casos de TB não foram diagnosticados no ano de 2022 (1). Reforçando a importância que o diagnóstico tem no combate a esta infecção, um estudo de projeção concluiu que, se até 2017 todos os doentes com TB pudessem ser submetidos a testes de suscetibilidade, a incidência de TB-MR reduziria em 29% em 2025 (95).

Os métodos tradicionais de diagnóstico de TB-MR não são rápidos o suficiente para permitir o início precoce de terapêuticas adequadas e melhorar os resultados clínicos. Por isso, a utilização de testes rápidos está a aumentar, embora continue a ser demasiado limitada, quer por fatores socioeconómicos ou geográficos (96). Alguns desses são testes moleculares que testam para a resistência de Rif, Inh e fluoroquinolonas, como por exemplo o Xpert MTB/RIF. Uma das desvantagens é a incapacidade de detetar mutações fora da região comumente conhecida, o que acontece numa percentagem menor de casos de TB-MR (21). Outra tecnologia correntemente a ser explorada é a sequenciação de nova geração (NGS), detetando resistência a vários fármacos, incluindo os mais recentes, num único teste. Exemplos destes são Deeplex® Myc-TB (GenoScreen) para uma variedade de fármacos, NanoTB® (Oxford Nanopore Technologies), para vários mas menos que o anterior, e TBseq® (ShengTing Biotech), apenas para o Emb. Dada a complexidade genética da resistência aos antibióticos, é improvável que um único diagnóstico molecular consiga abranger todo o espectro de mutações associadas ao grande número de fármacos que podem ser utilizados no tratamento da TB-MR. A interpretação dos resultados, maior tempo de processamento de amostras, a infraestrutura e custo são alguns dos inconvenientes que acarreta este meio de diagnóstico (97).

Até aqui, referíamos-nos ao diagnóstico de casos de TB ativa, por ser a manifestação mais urgente, uma vez que é transmissível. Mas, o diagnóstico de TB latente é também crucial, especialmente em indivíduos imunocomprometidos, devido ao risco acrescido de progressão para doença ativa (21). Para a testar, avaliando a resposta imunológica do hospedeiro ao bacilo, estão apenas disponíveis o TST ou o ensaio de libertação de interferão-gama (IGRA) (97). O TST, embora amplamente usado, apresenta limitações como baixa especificidade em pessoas vacinadas com BCG e em pacientes imunocomprometidos. Testes mais recentes, como QuantiFERON-TB Gold, apresentam maior especificidade, mas também com limitações, de custos e complexidade na interpretação dos resultados. Estes testes têm uma baixa capacidade de prever com precisão quem desenvolverá TB ativa, além de também não conseguirem distinguir TB ativa de latente na população pediátrica (21,98). Nesta população, o diagnóstico é ainda mais difícil pela incapacidade de produção de amostras de expectoração adequadas. Portanto, é fundamental priorizar o desenvolvimento de métodos diagnósticos especializados e precisos para a TB pediátrica. Paralelamente, tendo em conta a genética desta população, o monitoramento cuidadoso da resposta imunológica em crianças com TB contribuiria significativamente para o aprimoramento de vacinas (98).

Outro grande desafio é o diagnóstico da TB em doentes simultaneamente infetados pela bactéria *Mtb* e pelo vírus HIV, muito difícil por diversas razões: estar dependente da fase de HIV, confundir-se com outras infeções pulmonares nas radiografias, percentagem mais alta de TB extrapulmonar, entre outras (21). A sensibilidade da microscopia é inferior a 60% para a população imunocomprometidos e ainda menor para aqueles com HIV. A percentagem de casos detetados via este método pode ser tão baixa como 20%-35%, em laboratórios

sobrecarregados e subfinanciados, especialmente nas áreas onde a infecção pelo VIH é prevalente. A TB com baciloscopia negativa também é um caso particularmente difícil de diagnosticar e em muitos países, recomenda-se o exame de até 9 esfregaços de expectoração antes de se chegar a um diagnóstico de TB com baciloscopia negativa (99).

O fenómeno da heterorresistência, que se refere à coexistência de variantes suscetíveis e resistentes de *Mtb*, ou de múltiplas estirpes resistentes com mutações discretas que conferem resistência, numa única amostra, complica ainda mais o diagnóstico e a gestão da TB-MR. A heterorresistência encontra-se 5,38% dos casos de TB-DR, dependendo do contexto, dos fármacos e do método utilizado para detetar a resistência. Estudos de NGS revelaram microheterogeneidade em *loci* de resistência, onde variantes minoritárias podem mudar de frequência durante a infecção até à fixação de uma mutação, ou seja, dificultando a eficácia do tratamento. Isto implica que diferentes lesões, num mesmo indivíduo, podem responder de maneira distinta ao tratamento, o que destaca a necessidade de métodos de diagnóstico mais sensíveis e abordagens de tratamento personalizadas para melhorar os resultados em pacientes com TB-MR (30).

O tratamento da TB-MR também enfrenta inúmeras barreiras. A primeira é o custo elevado. Na Europa, estima-se que o custo em fármacos para tratar um doente é de 23000€. Ora, em países de médio ou baixo nível económico, esse valor é incomportável (21).

A TB não afeta a população de forma homogénea. Há uma forte incidência de TB sobre populações com níveis de pobreza crónica, desnutrição, comorbilidades, má ventilação e sobrelotação das casas, locais de trabalho ou comunidades. Todos esses fatores aumentam a probabilidade de indivíduos não infetados serem expostos à infecção por TB (100). A dimensão sociocultural inclui também estigma, tabus, preconceitos de género, desigualdade. Neste âmbito, surge um conceito importante de violência estrutural, que se refere à perda evitável de vidas devido a doenças evitáveis e curáveis, como a TB. Condições estruturais exercem uma violência contra populações de uma forma que afeta negativamente a sua qualidade de vida, os resultados dos cuidados de saúde e a esperança de vida, incluindo-se aqui os mais de 3 milhões casos não diagnosticados. Estas populações mais vulneráveis, como os mais pobres e marginalizados, enfrentam barreiras significativas para o diagnóstico e tratamento da doença como: falta de acesso a serviços de saúde por viverem, por exemplo, em zonas rurais; estigmatização que pode resultar na culpabilização da vítima, distanciação da família e tabus, como não partilhar alimentos, utensílios de cozinha ou cama; discriminação (101).

Em doentes co-infectados com HIV, o prognóstico é pior e pode incluir a morte, a recaída e a resistência adquirida aos antibacilares. Estes graves resultados aumentaram as preocupações sobre a utilização de regimes terapêuticos padrão para o tratamento da TB em pessoas. O tratamento da TB latente pode diminuir o risco de TB ativa em doentes com HIV, especialmente naqueles com um teste TST positivo (21).

Um estudo investigou a ocorrência de efeitos adversos no tratamento da TB-MR e obteve que cerca de 37% dos pacientes experienciaram um ou mais efeitos secundários. Os mais comuns incluem distúrbios gastrointestinais e transtornos psiquiátricos (102). A ocorrência de efeitos secundários, aliada aos regimes longos que os doentes enduram são fatores que diminuem a adesão à terapêutica. São frequentes as interrupções de tratamento durante o regime, o que, evidentemente, aumenta a probabilidade de recidivas e de evolução da resistência (38). A DOT, baseada na ideia de que a supervisão da toma aumenta a adesão dos pacientes, é uma

estratégia especialmente recomendada para casos de TB-MR ou doentes com necessidades complexas, como sem-abrigo, com comorbidades psiquiátricas ou dependências. Nos últimos anos, a terapia observada por vídeo (VOT) ganhou destaque como uma alternativa menos invasiva, preferida pelos doentes que submetem vídeo ou gravam ao vivo o momento da medicação. Um estudo real sobre a eficácia e custo-benefício da VOT está em processo num hospital na Irlanda (38).

Os desafios não se cingem só a questões económicas, mas, na verdade, de uma forma ou de outra, esse é um obstáculo gritante no combate à doença. Os objetivos de financiamento estão longe de ser alcançados: o total de 5,8 mil milhões de dólares, em 2022, corresponde apenas a 44% do objetivo global de 13 mil milhões de dólares anuais até 2022. É preciso um financiamento anual que garanta o acesso universal à prevenção, diagnóstico, tratamento e cuidados de qualidade para doentes infetados por Mtb (1).

No que concerne à descoberta e desenvolvimento de novos antibacilares, é essencial explorar formas de reduzir o tempo de realização de ensaios clínicos. Para facilitar esses ensaios, devem incentivar-se programas de investigação nos países em desenvolvimento, especialmente onde a incidência é superior. Em adição, a colaboração entre a indústria farmacêutica, investigadores, organizações governamentais e não governamentais é crucial para colmatar lacunas e acelerar o progresso (103).

7. Conclusão

A TB pode ser prevenida e, geralmente, até curada. É conhecido o seu agente etiológico bem como a sua fisiopatologia, é efetivamente tratada e curada através de antibióticos, como isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida. Já a TB-MR é uma crise de saúde pública mundial, cujos objetivos de diagnóstico e de tratamento da OMS não foram, ainda, alcançados.

O seu diagnóstico tem muito por onde progredir. Ainda que novos testes deem, inicialmente, resultados promissores, podem vir a revelar-se menos eficazes posteriormente. Além disso, muitas destas técnicas só são economicamente viáveis nos países desenvolvidos, e nos países em desenvolvimento, onde a incidência é superior e são mais necessários, não são possíveis.

O tratamento preconizado para esta forma da doença tem vindo a ser alterado ao longo da última década, de forma a melhorar resultados. Faz-se a combinação de fármacos já conhecidos com novos, tendo a bedaquilina, a delamanida e a pretomanida mostrado os resultados mais promissores. Há uma clara hierarquia dos fármacos a utilizar, tendo em conta a progressão da doença. Há dados e literatura acerca dos efeitos adversos de cada um, que viabilizam a sua melhor gestão, melhoria dos cuidados prestados e o empoderamento do doente. Há, também, uma variedade de fármacos novos ou reaproveitados, em diferentes fases de desenvolvimento, que podem revolucionar a terapêutica.

Falta, contudo, fazer uma gestão personalizada da TB-MR, através do rastreio da resistência aos fármacos. Graças às tecnologias de sequenciação genómica, cada vez é mais detalhada a informação acerca dos mecanismos de resistência de Mtb aos antibióticos. No entanto, esta revisão destacou a complexidade desses mesmos mecanismos.

O alcance da redução em 95% as mortes por TB e em 90% a taxa de incidência de TB, até 2035, como projetado a OMS, só será possível com o diagnóstico precoce e a instituição precoce e completude da terapêutica farmacológica adequada ao doente.

8. Referências bibliográficas

1. Organization WH. Global tuberculosis report 2023. 2023; Available from: <https://iris.who.int/>.
2. Saúde DG da. Relatório de Vigilância e Monitorização da Tuberculose em Portugal. Lisboa; 2022.
3. Organization WH. TB Country Profile: Mozambique. https://worldhealthorg.shinyapps.io/tb_profiles/?_inputs_&entity_type=%22country%22&iso2=%22MZ%22&lan=%22EN%22.
4. Stephanie F, Saragih M, Tambunan USF. Recent progress and challenges for drug-resistant tuberculosis treatment. Vol. 13, *Pharmaceutics*. 2021.
5. Barberis I, Bragazzi NL, Galluzzo L, Martini M. The history of tuberculosis: From the first historical records to the isolation of Koch's bacillus. Vol. 58, *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*. 2017.
6. Daniel TM. The history of tuberculosis. *Respir Med*. 2006;100(11):1862–70.
7. Camus JC, Pryor MJ, Médigue C, Cole ST. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Microbiology (N Y)*. 2002;148(10).
8. Falzon D, Gandhi N, Migliori GB, Sotgiu G, Cox HS, Holtz TH, et al. Resistance to fluoroquinolones and second-line injectable drugs: Impact on multidrug-resistant TB outcomes. *European Respiratory Journal*. 2013;42(1):156–68.
9. Organization WH. Implementing the end TB strategy: the essentials, 2022 update [Internet]. 2022. Available from: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/the-end-tb-strategy>
10. Onozaki I, Raviglione M. Stopping tuberculosis in the 21st century: Goals and strategies. Vol. 15, *Respirology*. 2010.
11. Zhang H, Liu M, Fan W, Sun S, Fan X. The impact of *Mycobacterium tuberculosis* complex in the environment on one health approach. Vol. 10, *Frontiers in Public Health*. 2022.
12. Batt SM, Minnikin DE, Besra GS. The thick waxy coat of mycobacteria, a protective layer against antibiotics and the host's immune system. Vol. 447, *Biochemical Journal*. 2020.
13. Rahlwes KC, Dias BRS, Campos PC, Alvarez-Arguedas S, Shiloh MU. Pathogenicity and virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. Vol. 14, *Virulence*. Taylor and Francis Ltd.; 2023.
14. Maison DP. Tuberculosis pathophysiology and anti-VEGF intervention. Vol. 27, *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*. 2022.
15. Cronan MR. In the Thick of It: Formation of the Tuberculous Granuloma and Its Effects on Host and Therapeutic Responses. Vol. 13, *Frontiers in Immunology*. 2022.

16. Carabalí-Isajar ML, Rodríguez-Bejarano OH, Amado T, Patarroyo MA, Izquierdo MA, Lutz JR, et al. Clinical manifestations and immune response to tuberculosis. Vol. 39, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2023.
17. Singer-Leshinsky S. Pulmonary tuberculosis: Improving diagnosis and management. *J Am Acad Physician Assist*. 2016;29(2).
18. Huang Y, Ai L, Wang X, Sun Z, Wang F. Review and Updates on the Diagnosis of Tuberculosis. Vol. 11, *Journal of Clinical Medicine*. 2022.
19. Drobniewski FA, Caws M, Gibson A, Young D. Modern laboratory diagnosis of tuberculosis. Vol. 3, *Lancet Infectious Diseases*. Lancet Publishing Group; 2003. p. 141–7.
20. Gong W, Wu X. Differential Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection and Active Tuberculosis: A Key to a Successful Tuberculosis Control Strategy. Vol. 12, *Frontiers in Microbiology*. 2021.
21. Heidary M, Shirani M, Moradi M, Goudarzi M, Pouriran R, Rezaeian T, et al. Tuberculosis challenges: Resistance, co-infection, diagnosis, and treatment. Vol. 12, *European Journal of Microbiology and Immunology*. Akademiai Kiado ZRt.; 2022. p. 1–17.
22. Organization WH. WHO operational handbook on tuberculosis Module 4: Treatment – drug-susceptible tuberculosis treatment. [Internet]. Geneva; 2022. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240050761>
23. Batt SM, Burke CE, Moorey AR, Besra GS. Antibiotics and resistance: the two-sided coin of the mycobacterial cell wall. Vol. 6, *Cell Surface*. 2020.
24. Singh R, Dwivedi SP, Gaharwar US, Meena R, Rajamani P, Prasad T. Recent updates on drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Vol. 128, *Journal of Applied Microbiology*. 2020.
25. Organization WH. WHO operational handbook on tuberculosis. Module 4: treatment - drug-resistant tuberculosis treatment, 2022 update. [Internet]. 2022. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240065116>
26. Kurz SG, Furin JJ, Bark CM. Drug-Resistant Tuberculosis. *Infect Dis Clin North Am*. 2016 Jun;30(2):509–22.
27. Organization WH. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 1: prevention – tuberculosis preventive treatment. [Internet]. Geneva; 2020. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240001503>
28. Jones RM, Adams KN, Eldesouky HE, Sherman DR. The evolving biology of *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance. Vol. 12, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022.
29. Dookie N, Rambaran S, Padayatchi N, Mahomed S, Naidoo K. Evolution of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: A review on the molecular determinants of resistance and implications for personalized care. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2018;73(5).

30. Koch A, Cox H, Mizrahi V. Drug-resistant tuberculosis: challenges and opportunities for diagnosis and treatment. Vol. 42, *Current Opinion in Pharmacology*. 2018.
31. Allué-Guardia A, García JI, Torrelles JB. Evolution of Drug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Strains and Their Adaptation to the Human Lung Environment. *Front Microbiol*. 2021;12.
32. Melnyk AH, Wong A, Kassen R. The fitness costs of antibiotic resistance mutations. *Evol Appl*. 2015;8(3).
33. Borrell S, Gagneux S. Infectiousness, reproductive fitness and evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. Vol. 13, *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2009.
34. da Silva PEA, Von Groll A, Martin A, Palomino JC. Efflux as a mechanism for drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: Table 1. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2011;63(1):1–9.
35. World Health Organization. Geneva. 2022 [cited 2024 Oct 21]. Web Annexes In: WHO operational handbook on tuberculosis. Module 4: treatment - drug-resistant tuberculosis treatment, 2022 update. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240065116>
36. TB Alliance. From Drugs to Regimens: Transforming TB Drug Development [Internet]. [cited 2024 Oct 21]. Available from: <https://www.tballiance.org/content/drugs-regimens-transforming-tb-drug-development>
37. Stop TB Partnership's Working Group on New Drugs. <https://www.newtbdrugs.org/pipeline/>. 2024. Working Group on New TB Drugs' "Global TB Drug Pipeline."
38. Gill CM, Dolan L, Piggott LM, McLaughlin AM. New developments in tuberculosis diagnosis and treatment. Vol. 18, *Breathe*. European Respiratory Society; 2022.
39. Campaniço A, Harjivan SG, Warner DF, Moreira R, Lopes F. Addressing latent tuberculosis: New advances in mimicking the disease, discovering key targets, and designing hit compounds. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. 2020.
40. Dokrungskoon T, Tulyaprawat O, Suwannakarn K, Ngamskulrungrroj P. In vitro modeling of isoniazid resistance mechanisms in *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Front Microbiol*. 2023;14.
41. Walsh KF, Vilbrun SC, Souroutzidis A, Delva S, Joissaint G, Mathurin L, et al. Improved Outcomes with High-dose Isoniazid in Multidrug-resistant Tuberculosis Treatment in Haiti. *Clinical Infectious Diseases*. 2019 Aug 15;69(4):717–9.
42. Campbell EA, Korzheva N, Mustaev A, Murakami K, Nair S, Goldfarb A, et al. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial RNA polymerase. *Cell*. 2001;104(6).
43. Koch A, Mizrahi V, Warner DF. The impact of drug resistance on *Mycobacterium tuberculosis* physiology: what can we learn from rifampicin? *Emerg Microbes Infect*. 2014;3(1):1–11.

44. Rothstein DM. Rifamycins, alone and in combination. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016;6(7).
45. Schubert K, Sieger B, Meyer F, Giacomelli G, Böhm K, Rieblinger A, et al. The antituberculosis drug ethambutol selectively blocks apical growth in CMN group bacteria. *mBio*. 2017;8(1).
46. Zhang N, Savic RM, Boeree MJ, Peloquin CA, Weiner M, Heinrich N, et al. Optimising pyrazinamide for the treatment of tuberculosis. *European Respiratory Journal*. 2021;58(1).
47. Zhang Y, Shi W, Zhang W, Mitchison D. Mechanisms of Pyrazinamide Action and Resistance. *Microbiol Spectr*. 2014;2(4).
48. Xia H, Van Den Hof S, Cobelens F, Zhou Y, Zhao B, Wang S, et al. Value of pyrazinamide for composition of new treatment regimens for multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in China. *BMC Infect Dis*. 2020;20(1).
49. Cegielski JP, Chan PC, Lan Z, Udawadia ZF, Viikklepp P, Yim JJ, et al. Aminoglycosides and Capreomycin in the Treatment of Multidrug-resistant Tuberculosis: Individual Patient Data Meta-Analysis of 12 030 Patients from 25 Countries, 2009-2016. *Clinical Infectious Diseases*. 2021;73(11):E3929–36.
50. Georghiou SB, Magana M, Garfein RS, Catanzaro DG, Catanzaro A, Rodwell TC. Evaluation of genetic mutations associated with mycobacterium tuberculosis resistance to amikacin, kanamycin and capreomycin: A systematic review. *PLoS One*. 2012;7(3).
51. Mirzayev F, Viney K, Linh NN, Gonzalez-Angulo L, Gegia M, Jaramillo E, et al. World health organization recommendations on the treatment of drug-resistant tuberculosis, 2020 update. Vol. 57, *European Respiratory Journal*. European Respiratory Society; 2021.
52. Tiberi S, du Plessis N, Walzl G, Vjecha MJ, Rao M, Ntoumi F, et al. Tuberculosis: progress and advances in development of new drugs, treatment regimens, and host-directed therapies. Vol. 18, *The Lancet Infectious Diseases*. 2018.
53. Oxlade O, Murray M. Tuberculosis and Poverty: Why Are the Poor at Greater Risk in India? *PLoS One*. 2012;7(11).
54. Drlica K, Hiasa H, Kerns R, Malik M, Mustaev A, Zhao X. Quinolones: Action and Resistance Updated. *Curr Top Med Chem*. 2009;9(11).
55. TB Alliance. Clinical Development and Marketed Products. 2024. *Our Pipeline: Clinical Development and Marketed Products*.
56. Li Y, Sun F, Zhang W. Bedaquiline and delamanid in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: Promising but challenging. Vol. 80, *Drug Development Research*. 2019.
57. Xu J, Converse PJ, Upton AM, Mdluli K, Fotouhi N, Nuermberger EL. Comparative efficacy of the novel diarylquinoline TBAJ-587 and bedaquiline against a resistant

- Rv0678 mutant in a mouse model of tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65(4).
58. Almeida D, Converse PJ, Li SY, Upton AM, Fotouhi N, Nuermberger EL. Comparative efficacy of the novel diarylquinoline TBAJ-876 and Bedaquiline against a Resistant Rv0678 Mutant in a mouse model of tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65(12).
 59. Sarathy JP, Ganapathy US, Zimmerman MD, Dartois V, Gengenbacher M, Dick T. TBAJ-876, a 3,5-dialkoxypyridine analogue of bedaquiline, is active against *Mycobacterium abscessus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(4).
 60. Ushtanit A, Kulagina E, Mikhailova Y, Makarova M, Safonova S, Zimenkov D. Molecular Determinants of Ethionamide Resistance in Clinical Isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antibiotics.* 2022;11(2).
 61. Lee SFK, Laughon BE, McHugh TD, Lipman M. New drugs to treat difficult tuberculous and nontuberculous mycobacterial pulmonary disease. Vol. 25, *Current Opinion in Pulmonary Medicine.* 2019.
 62. Foti C, Piperno A, Scala A, Giuffrè O. Oxazolidinone antibiotics: Chemical, biological and analytical aspects. Vol. 26, *Molecules.* 2021.
 63. Tahlan K, Wilson R, Kastrinsky DB, Arora K, Nair V, Fischer E, et al. SQ109 targets MmpL3, a membrane transporter of trehalose monomycolate involved in mycolic acid donation to the cell wall core of mycobacterium tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(4).
 64. Imran M, Arora MK, Chaudhary A, Khan SA, Kamal M, Alshammari MM, et al. MmpL3 Inhibition as a Promising Approach to Develop Novel Therapies against Tuberculosis: A Spotlight on SQ109, Clinical Studies, and Patents Literature. Vol. 10, *Biomedicines.* 2022.
 65. Imran M, Abida, Alotaibi NM, Thabet HK, Alruwaili JA, Asdaq SMB, et al. QcrB inhibition as a potential approach for the treatment of tuberculosis: A review of recent developments, patents, and future directions. Vol. 16, *Journal of Infection and Public Health.* 2023.
 66. Mirnejad R, Asadi A, Khoshnood S, Mirzaei H, Heidary M, Fattorini L, et al. Clofazimine: A useful antibiotic for drug-resistant tuberculosis. Vol. 105, *Biomedicine and Pharmacotherapy.* Elsevier Masson SAS; 2018. p. 1353–9.
 67. Van Deun A, Maug AKJ, Salim MAH, Das PK, Sarker MR, Daru P, et al. Short, highly effective, and inexpensive standardized treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;182(5).
 68. Gold B, Zhang J, Quezada Lopez L, Roberts J, Ling Y, Wood M, et al. Identification of β -Lactams Active against *Mycobacterium tuberculosis* by a Consortium of Pharmaceutical Companies and Academic Institutions. *ACS Infect Dis.* 2022;8(3).
 69. Rossignol JF. Nitazoxanide: A first-in-class broad-spectrum antiviral agent. Vol. 110, *Antiviral Research.* 2014.

70. Odingo J, Bailey MA, Files M, Early J V., Alling T, Dennison D, et al. In Vitro Evaluation of Novel Nitazoxanide Derivatives against Mycobacterium tuberculosis. ACS Omega. 2017;2(9).
71. Maitra A, Bates S, Kolvekar T, Devarajan P V., Guzman JD, Bhakta S. Repurposing-a ray of hope in tackling extensively drug resistance in tuberculosis. International Journal of Infectious Diseases. 2015;32.
72. Mikušová K, Huang H, Yagi T, Holsters M, Vereecke D, D’Haeze W, et al. Decaprenylphosphoryl arabinofuranose, the donor of the D-arabinofuranosyl residues of mycobacterial arabinan, is formed via a two-step epimerization of decaprenylphosphoryl ribose. J Bacteriol. 2005;187(23).
73. Brecik M, Centárová I, Mukherjee R, Kolly GS, Huszár S, Bobovská A, et al. DprE1 Is a Vulnerable Tuberculosis Drug Target Due to Its Cell Wall Localization. ACS Chem Biol. 2015;10(7).
74. Makarov V, Manina G, Mikusova K, Möllmann U, Ryabova O, Saint-Joanis B, et al. Benzothiazinones Kill Mycobacterium tuberculosis by blocking Arabinan synthesis. Science (1979). 2009;324(5928).
75. Shirude PS, Shandil R, Sadler C, Naik M, Hosagrahara V, Hameed S, et al. Azaindoles: Noncovalent DprE1 inhibitors from scaffold morphing efforts, kill Mycobacterium tuberculosis and are efficacious in vivo. J Med Chem. 2013;56(23).
76. Hariguchi N, Chen X, Hayashi Y, Kawano Y, Fujiwara M, Matsuba M, et al. OPC-167832, a novel carbostyryl derivative with potent antituberculosis activity as a DPRE1 inhibitor. Antimicrob Agents Chemother. 2020;64(6).
77. Olaru ID, Von Groote-Bidlingmaier F, Heyckendorf J, Yew WW, Lange C, Chang KC. Novel drugs against tuberculosis: A clinician’s perspective. Vol. 45, European Respiratory Journal. 2015.
78. Palucci I, Delogu G. Host Directed Therapies for Tuberculosis: Futures Strategies for an Ancient Disease. Vol. 63, Chemotherapy. 2018.
79. Kaufmann SHE, Dorhoi A, Hotchkiss RS, Bartenschlager R. Host-directed therapies for bacterial and viral infections. Vol. 17, Nature Reviews Drug Discovery. 2018.
80. Zumla A, Rao M, Wallis RS, Kaufmann SHE, Rustomjee R, Mwaba P, et al. Host-directed therapies for infectious diseases: Current status, recent progress, and future prospects. Vol. 16, The Lancet Infectious Diseases. 2016.
81. Keravis T, Lugnier C. Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) isozymes as targets of the intracellular signalling network: Benefits of PDE inhibitors in various diseases and perspectives for future therapeutic developments. Vol. 165, British Journal of Pharmacology. 2012.
82. Subbian S, Tsenova L, Holloway J, Peixoto B, O’Brien P, Dartois V, et al. Adjunctive Phosphodiesterase-4 Inhibitor Therapy Improves Antibiotic Response to Pulmonary Tuberculosis in a Rabbit Model. EBioMedicine. 2016;4.

83. Raien A, Davis S, Zhang M, Zitser D, Lin M, Pitcher G, et al. Effects of Everolimus in Modulating the Host Immune Responses against Mycobacterium tuberculosis Infection. Vol. 12, Cells. 2023.
84. Ashley D, Hernandez J, Cao R, To K, Yegiazaryan A, Abraham R, et al. Antimycobacterial effects of everolimus in a human granuloma model. J Clin Med. 2020;9(7).
85. Ignatius EH, Dooley KE. A leap forward in assessing host-directed therapies for tuberculosis. Vol. 9, The Lancet Respiratory Medicine. 2021.
86. Wallis RS, Zumla A. Vitamin D as Adjunctive Host-Directed Therapy in Tuberculosis: A Systematic Review. Open Forum Infect Dis. 2016 May 1;3(3).
87. Papagni R, Pellegrino C, Di Gennaro F, Patti G, Ricciardi A, Novara R, et al. Impact of Vitamin D in Prophylaxis and Treatment in Tuberculosis Patients. Vol. 23, International Journal of Molecular Sciences. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2022.
88. Soeharto DA, Rifai DA, Marsudidjadja S, Roekman AE, Assegaf CK, Louisa M. Vitamin D as an Adjunctive Treatment to Standard Drugs in Pulmonary Tuberculosis Patients: An Evidence-Based Case Report. Adv Prev Med. 2019;2019.
89. Workineh M, Mathewos B, Moges B, Gize A, Getie S, Stendahl O, et al. Vitamin D deficiency among newly diagnosed tuberculosis patients and their household contacts: A comparative cross-sectional study. Archives of Public Health. 2017;75(1).
90. Prabowo SA, Gröschel MI, Schmidt EDL, Skrahina A, Mihaescu T, Hastürk S, et al. Targeting multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) by therapeutic vaccines. Vol. 202, Medical Microbiology and Immunology. 2013.
91. Qu M, Zhou X, Li H. BCG vaccination strategies against tuberculosis: updates and perspectives. Vol. 17, Human Vaccines and Immunotherapeutics. 2021.
92. Hoft D, Abate G. Immunotherapy for tuberculosis: future prospects. Immunotargets Ther. 2016 Apr;37.
93. Nell AS, D'Lom E, Bouic P, Sabaté M, Bosser R, Picas J, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of the novel antituberculous vaccine RUTI: Randomized, placebo-controlled phase II clinical trial in patients with latent tuberculosis infection. PLoS One. 2014;9(2).
94. Mi J, Liang Y, Liang J, Gong W, Wang S, Zhang J, et al. The Research Progress in Immunotherapy of Tuberculosis. Vol. 11, Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2021.
95. Kendall EA, Azman AS, Cobelens FG, Dowdy DW. MDR-TB treatment as prevention: The projected population-level impact of expanded treatment for multidrug-resistant tuberculosis. PLoS One. 2017;12(3).
96. Nandlal L, Perumal R, Naidoo K. Rapid Molecular Assays for the Diagnosis of Drug-Resistant Tuberculosis. Vol. 15, Infection and Drug Resistance. 2022.

97. World Health Organization. Use of targeted next-generation sequencing to detect drug-resistant tuberculosis [Internet]. 2023. Available from: Use of targeted next-generation sequencing to detect drug-resistant tuberculosis
98. Bendre AD, Peters PJ, Kumar J. Tuberculosis: Past, present and future of the treatment and drug discovery research. Vol. 2, Current Research in Pharmacology and Drug Discovery. 2021.
99. Perkins MD, Cunningham J. Facing the crisis: Improving the diagnosis of tuberculosis in the HIV era. In: Journal of Infectious Diseases. 2007.
100. Hargreaves JR, Boccia D, Evans CA, Adato M, Petticrew M, Porter JDH. The social determinants of tuberculosis: from evidence to action. Am J Public Health. 2011;101(4).
101. Mason PH, Roy A, Spillane J, Singh P. SOCIAL, HISTORICAL AND CULTURAL DIMENSIONS OF TUBERCULOSIS. Vol. 48, Journal of Biosocial Science. Cambridge University Press; 2015. p. 206–32.
102. Yang TW, Park HO, Jang HN, Yang JH, Kim SH, Moon SH, et al. Side effects associated with the treatment of multidrug-resistant tuberculosis at a tuberculosis referral hospital in South Korea. Medicine (United States). 2017;96(28).
103. Kumar D, Negi B, Rawat DS. The anti-tuberculosis agents under development and the challenges ahead. Vol. 7, Future Medicinal Chemistry. Future Science Ltd; 2015. p. 1981–2003.