



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

Universitat Autònoma de Barcelona

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina

Programa de doctorado en Medicina

**TUBERCULOSIS MULTIRRESISTENTE
EN UN ÁREA RURAL DE ANGOLA**

Tesis presentada por

MARIA LUISA AZNAR RUIZ DE ALEGRIA

Para optar al grado de Doctora

Directores: Israel Molina Romero y María Teresa Tórtola Fernández

Tutor: Vicenç Falcó Ferrer

Septiembre 2019

Israel Molina Romero, Médico Adjunto del Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario Vall d'Hebron y Director del Programa de Salud Internacional del Instituto Catalán de la Salud

María Teresa Tórtola Fernández, Médica Adjunta del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Vall d'Hebron y Profesora asociada de la Facultad de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona

Y

Vicenç Falcó Ferrer, Profesor Titular de la Facultad de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona y Jefe Clínico del Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario Vall d'Hebron

Certifican que la tesis titulada:

“Tuberculosis Multirresistente en un área rural de Angola”

Que presenta la licenciada María Luisa Aznar Ruiz de Alegría ha sido realizada bajo su dirección en el Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario Vall d'Hebron, la consideran finalizada y autorizan su presentación para que sea defendida ante el tribunal que corresponda

Dr. Israel Molina Romero Dra. María Teresa Tórtola Fernández Dr. Vicenç Falcó Ferrer

En Barcelona, a 2 de Septiembre de 2019

A mi familia

La pobreza no es natural, y puede erradicarse mediante acciones de los seres humanos.

Erradicar la pobreza no es un acto de caridad, es un acto de justicia.

Nelson Mandela

AGRADECIMIENTOS

Resulta difícil agradecer a todas las personas que han colaborado en esta tesis, directa o indirectamente. Directamente, con su tiempo, visitando pacientes, recogiendo datos, analizando muestras, mirando resultados, comentando lo encontrado, revisando los trabajos...e indirectamente con su apoyo, poniendo el hombro cuando las cosas no salen como uno piensa, apoyando con fuerza cuando hace falta energía y dando opinión y consejo cuando se han necesitado.

Recuerdo cuando llegué por primera vez a Cubal. Con una ilusión enorme y un miedo más grande aún, de no saber qué me encontraría, de sentir que quizás todo se me haría grande. Las sensaciones de los primeros días fueron impactantes, no puedo negarlo, pero en poco tiempo me sentí en mi casa, formando parte de aquello. Y todo gracias a la gente, a cada una de las personas que con su cariño y paciencia me acogieron, me enseñaron y me hicieron sentir muy querida.

A todas las personas que me acompañaron durante mi estancia en Cubal. A las hermanas teresianas, en especial a Milagros y Teresa, quienes me enseñaron a trabajar con calma y paciencia, y me transmitieron que con amor e ilusión todo puede conseguirse. A Zacarias, quien con su dedicación a los enfermos y sus ganas insaciables de aprender motivó cada uno de mis días, y a todo el resto de los enfermeros del centro de tuberculosis, en especial a Estevao Gabriel y Rosa, por ayudarme en todo lo que estaba en sus manos. A Roser y Albert, quienes con su energía, vitalidad y mentalidad positiva hicieron que el trabajo allí fuera apasionante. Y a muchos más: a Arlete, a Pessela, a Ermelinda, a Domingas Piedade, a Cati, a todos. Gracias a todos ellos sentí que Cubal fue mi hogar durante el tiempo que viví allí.

A mis directores de tesis, Israel y Teresa. A Israel por esa capacidad de ver la luz al final del túnel, por acompañarme y aconsejarme siempre con paciencia, por haberme permitido vivir esta experiencia y por contar conmigo en todo momento, preocupándose por qué quiero y cómo me siento. Y a Teresa, quien siempre ha tenido la paciencia de explicarme mis dudas microbiológicas, y quien desde el principio ha puesto toda su energía en llevar adelante esta tesis.

A Vicenç, tutor de esta tesis y la primera persona con la que trabajé en Cubal, quién me enseñó todos los consejos para no hundirme durante aquellos primeros quince días en el hospital.

A quienes han estado, días y días, ayudándome con el manejo de pacientes y con el análisis de los datos, tarea que no ha sido nada fácil. En especial a Cristina, mi amiga y mi guía, a Eva, a Ariadna y a Jacobo.

A mi familia, quienes siempre me han dado todo su apoyo, en las alegrías y en los momentos no tan alegres, y quienes me han hecho creer que cualquier ilusión merece la pena, y que cualquier sueño puede seguirse. A mis hijos, que con su sonrisa diaria han hecho que mi mundo sea más bonito y tenga más sentido. Y a Gastón, mi amigo, mi compañero, mi bastón cuando hay dificultades y mi fuente de energía, quien me ha acompañado en cada uno de los momentos de esta tesis, ha sufrido conmigo las caídas y ha celebrado los éxitos. Su fuerza, su ilusión casi como la de un niño y su capacidad de sorpresa continua han sido para mí la mejor fuerza.

ABREVIATURAS

BCG: Vacuna de Albert Calmette and Camille Guérin

Bdq: Bedaquilina

CFZ: Clofazimina

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria

DE: Desviación estándar

Dlm: Delamanida

EMB: Etambutol

Eto: Etionamida

IC: Intervalo de confianza

INH: Isoniacida

Km: Kanamicina

KMS: Kilometros

Lfx: Levofloxacino

LPAs: Line probe assays

Lzd: Linezolid

MTB: *Mycobacterium tuberculosis*

MGIT: Mycobacterial growth indicator tube

MXF: Moxifloxacino

OMS: Organización Mundial de la Salud

Pa: Pretomanida

PAS: Ácido paraaminosalicílico

PNLT: Programa Nacional de Lucha contra la Tuberculosis

Pto: Protionamida

PZN: Pirazinamida

RIF: Rifampicina

RIQ: Rango intercuartílico

RRDR: Región determinante de resistencia a RIF (RRDR)

STR: Estreptomina

TB: Tuberculosis

TB MDR: Tuberculosis multirresistente

TB XDR: Tuberculosis extremadamente resistente

TDO: Tratamiento directamente observado

Trd: Terizidona

VIIH: Virus de la inmunodeficiencia humana

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	9
2. INTRODUCCIÓN.....	12
2.1. HISTORIA DE LA TUBERCULOSIS.....	12
2.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA TUBERCULOSIS MDR.....	14
2.2.1. Epidemiología global de la tuberculosis MDR.....	14
2.2.2. Epidemiología de la tuberculosis en Angola.....	15
2.3. DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS MDR.....	17
2.3.1. Métodos fenotípicos de detección de resistencia.....	17
2.3.2. Métodos genotípicos de detección de resistencias.....	20
2.4. TRATAMIENTO DE LA TUBERCULOSIS MDR.....	21
2.4.1. Guías de la OMS para el tratamiento de la tuberculosis MDR.....	23
2.4.2. Guías de Angola para el tratamiento de la tuberculosis.....	26
3. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO E HIPÓTESIS DEL ESTUDIO.....	27
3.1. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO.....	27
3.2. HIPÓTESIS DEL TRABAJO.....	28
4. OBJETIVOS.....	29
4.1. OBJETIVO PRINCIPAL.....	29
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
5. ARTÍCULOS PUBLICADOS.....	30
5.1. ARTÍCULO 1.....	30
5.2. ARTÍCULO 2.....	40
6. RESULTADOS.....	54
7. DISCUSIÓN.....	57
8. LIMITACIONES.....	69
9. CONCLUSIONES.....	71
10. LÍNEAS DE TRABAJO FUTURAS.....	72
11. BIBLIOGRAFÍA.....	74
12. ANEXO.....	81

1. RESUMEN

La Tuberculosis Multirresistente (TB MDR) es una enfermedad causada por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) resistente a la rifampicina (RIF) e isoniazida (INH). En 2017 se notificaron a nivel mundial más de 160.000 casos de TB MDR, de los cuales sólo un 25% inició tratamiento con fármacos de segunda línea. Sin embargo, las estimaciones sugieren que unos 558.000 casos desarrollaron TB resistente a RIF, y que de estos un 82% tenían TB MDR. Existen numerosas barreras que justifican las diferencias entre los casos notificados y los casos estimados, como son la dificultad de acceso a los sistemas de salud, la falta de medios diagnósticos y la falta de notificación de casos. En Angola, se desconocía la prevalencia de TB MDR debido a la falta de métodos apropiados para su diagnóstico. La realización de los proyectos relacionados con la presente tesis puso de manifiesto los primeros casos del país.

Los trabajos que componen esta tesis se realizaron a raíz de un primer estudio realizado por nuestro grupo en el que se observó una alta proporción de fracaso entre los pacientes diagnosticados de TB que iniciaban tratamiento con fármacos de primera línea. Estos datos hicieron sospechar la posibilidad de que una de las causas del alto porcentaje de fracasos fuera la existencia de TB MDR. Para corroborar esta hipótesis, se instaló el primer equipo de diagnóstico molecular rápido de detección de MTB y resistencia a RIF (Xpert MTB/RIF) en el país, lo que permitió conocer la prevalencia de esta enfermedad, así como poder iniciar el tratamiento adecuado con fármacos de segunda línea en los pacientes infectados por cepas de TB MDR. El primero de los trabajos que componen esta tesis describe la prevalencia de TB MDR encontrada en Cubal, con cifras mucho más altas a las estimadas por la OMS para Angola (8% en pacientes no tratados previamente para TB y 71,1% en los pacientes que habían recibido tratamiento para TB previamente), así como los factores relacionados con el desarrollo de TB MDR. En el segundo trabajo se describen las características clínicas y la evolución de los pacientes diagnosticados de TB MDR que fueron tratados con un régimen estandarizado de segunda línea, observándose que más del 80% de los pacientes presentaron efectos adversos relacionados con los fármacos de segunda línea y que sólo un 54% de los casos completaron el tratamiento y se curaron.

Las conclusiones de esta tesis han sido enormemente valiosas para conocer que la TB MDR es un problema importantísimo en el país. A raíz de los hallazgos observados en los artículos descritos en esta tesis el programa nacional de Angola de lucha contra la TB (PNLT) ha instalado nuevos aparatos Xpert MTB/RIF en el país y las guías de tratamiento se han modificado, contemplando el régimen de segunda línea e iniciándose los trámites para la realización de un estudio epidemiológico para conocer la prevalencia de TB MDR a nivel nacional.

SUMMARY

Multidrug-resistant TB (MDR TB) is caused by bacillus *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) resistant to rifampin (RIF) and isoniazid (INH). In 2017, more than 160,000 cases of MDR TB were reported, and only 25% of them started treatment with second-line drugs. However, it's estimated that about 558,000 cases developed RIF-resistant TB, of which 82% had MDR TB. There are numerous barriers that justify the differences between reported cases and estimated cases, such as the difficulty of access to health systems, the lack of diagnostic tools and the poor case notification. In Angola, the prevalence of MDR TB was unknown since there was no appropriate method for diagnosis. The realization of the projects related to this thesis revealed the first cases of the country.

The papers that compose this thesis were inspired by the results of a first study carried out by our group in which a high proportion of failure was observed among patients diagnosed with TB who started treatment with first-line drugs. These data suggested that one of the causes of the high percentage of failures was the presence of MDR TB in the area. To corroborate this hypothesis, the first rapid molecular diagnosis equipment for detection of both MTB and resistance to RIF (Xpert MTB / RIF) was installed in the country, which allowed to know the prevalence of this disease, and to initiate the appropriate treatment with second-line drugs in patients infected with MDR TB strains. The first of the studies that compose this thesis describes the prevalence of MDR TB found in Cubal, which is much higher than the estimated by WHO for Angola (8% in patients not previously treated for TB and 71.1% in patients who had received treatment for TB previously), as well as factors related to the development of MDR TB. The second study describes the clinical characteristics and microbiological outcomes of patients diagnosed with MDR TB who

were treated with a standardized second-line regimen, observing that more than 80% of the patients experienced adverse effects related to second-line drugs and that only 54% of cases achieved treatment success.

The conclusions of this thesis have been enormously valuable to know that MDR TB is a very important problem in the country. Based on the results observed in the articles described in this thesis, Angola's national TB control program (PNLT) has installed new Xpert MTB / RIF devices in the country and the treatment guidelines have been modified, considering the regimen for MDR TB and starting the process for the performance of an epidemiological study to know the prevalence of MDR TB nationwide.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 HISTORIA DE LA TUBERCULOSIS

Los orígenes de la TB datan de hace unos 3 millones de años y se encuentran en África del Este, desde donde parece que el bacilo se expandió al resto del mundo, probablemente coincidiendo con flujos migratorios desde África (1). No existen evidencias arqueológicas de enfermedad tuberculosa en África del Este, sin embargo, se han encontrado momias egipcias de hace más de 5.000 años con deformidades esqueléticas típicas del mal de Pott causado por el bacilo de la TB (2). De la misma manera que en Egipto, existen evidencias arqueológicas de TB en momias Peruanas (3).

Hipócrates, en la época de la Grecia Antigua, describió la TB como una enfermedad fatal que afectaba especialmente a adultos jóvenes, y definió tanto los síntomas como las características pulmonares de las lesiones, denominándose a la enfermedad con el término de “Phtisis”. Fue Isócrates el primer autor que supuso que la TB estaba causada por un agente infeccioso, y Aristóteles el que sugirió el carácter contagioso de la enfermedad (4). En la Antigua Roma se comenzó a recomendar que los pacientes con TB respiraran aire fresco, viajaran a lugares de costa y tomaran leche como tratamiento de la TB (5) y en 1363 se propuso por primera vez la extracción quirúrgica de las adenitis tuberculosas como intervención que trataba de ser curativa (6). La descripción anatómica y patológica de la enfermedad fue ilustrada en 1679 por Francis Sylvius en su Opera Medica, en la que se describe la progresión de las lesiones a abscesos, cavidades y empiemas en los pulmones (7) y poco después se ordenó notificar los casos de TB, prohibiendo su admisión en hospitales públicos y estableciendo lugares específicos para el cuidado de los pacientes (8).

En 1882, el científico prusiano Robert Kock descubrió el agente causal de la TB (9) y en las décadas siguientes otros descubrimientos tales como el test cutáneo de Mantoux y la vacuna de Albert Calmette and Camille Guérin (BCG) ayudaron al desarrollo del conocimiento que se tenía sobre la TB. Durante el siglo XIX se crearon los primeros sanatorios tuberculosos, siendo, durante este tiempo, la práctica de neumotórax el único tratamiento que podía ofrecerse a los pacientes afectos de TB. En 1944 se descubrió el

primer antibiótico útil para la TB: la estreptomina (STR), considerándose desde ese momento la historia moderna de la TB (10). Se llevó a cabo entonces el primer ensayo clínico de la historia, evaluándose la STR sola comparada con el estándar de la época, el reposo (11). De forma simultánea se sintetizó otro fármaco, el ácido paraaminosalicílico (PAS) en Europa, observándose su efectividad contra la TB. La aparición de los primeros fármacos efectivos contra la TB supuso un enorme avance en la lucha contra la enfermedad, sin embargo, en pocos años pudo evidenciarse la aparición de resistencias a ambos fármacos. Fue entonces cuando se realizó un ensayo clínico aleatorizado, en el que se comparó la eficacia de estos fármacos solos frente a combinaciones de los mismos, mostrándose las ventajas del tratamiento combinado en reducir el desarrollo de resistencias y fracasos (12). No fue sin embargo hasta 1952 con la aparición de la isoniazida (INH) cuando la historia de la TB alcanza una nueva etapa, extendiéndose el uso de este fármaco para el tratamiento de la enfermedad. En 1957 se descubrió la rifampicina (RIF), que revolucionó por completo el tratamiento de la TB dada su alta eficacia (13). Pero al igual que había pasado con los fármacos anteriores, poco tiempo después de su descubrimiento, comenzaron a describirse las primeras resistencias tanto a la RIF como a la INH (14, 15), apareciendo diferentes brotes causados por TB resistente a fármacos (16).

En 1994, el Programa de la OMS de control de TB estableció el proyecto de vigilancia de TB MDR con el objetivo de medir la magnitud de la TB MDR a nivel mundial y estableció guías para elaborar informes de seguimiento a nivel nacional (17), publicándose, en 1997, el primer informe global sobre TB MDR. En 2006 se describen los primeros casos de TB extremadamente resistente (TB XDR) (18), definiéndose inicialmente como las cepas de TB resistentes a INH, RIF y al menos tres de las seis clases de antituberculosos de segunda línea (aminoglicósidos, polipéptidos, fluoroquinolonas, tioamidas, cicloserina y PAS) (19), cambiándose posteriormente la definición a la que conocemos hoy en día (resistencia a INH, RIF, fluoroquinolonas y al menos uno de los tres fármacos inyectables de segunda línea).

Desde 2010, un informe anual sobre la situación mundial de la TB MDR ha sido publicado por la OMS.

2.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA TUBERCULOSIS MDR

2.2.1. Epidemiología global de la TB MDR

La TB continúa siendo hoy en día una de las 10 principales causas de muerte a nivel mundial, siendo, desde 2015, la causa de muerte más frecuente de etiología infecciosa, responsable de 1,3 millones de muertes entre personas no infectadas por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y 300.000 más entre personas infectadas por el VIH (20). La TB MDR, definida como aquella causada por el bacilo MTB resistente a RIF e INH, representa una importante amenaza para el control mundial de la TB. En 2017 se estimó que un 4,1% de los casos nuevos (casos que no han recibido tratamiento antituberculoso anteriormente) y un 19% de los casos previamente tratados fueron causados por TB MDR, afectando a un total de 558.000 personas. En este mismo periodo de tiempo, la TB MDR fue causa del 20% de las muertes causadas por TB. Según el último informe de la OMS de 2018, sólo el 25% de los casos estimados infectados por TB MDR (558.000) iniciaron tratamiento, por lo que existe una barrera importante de acceso a los fármacos apropiados.

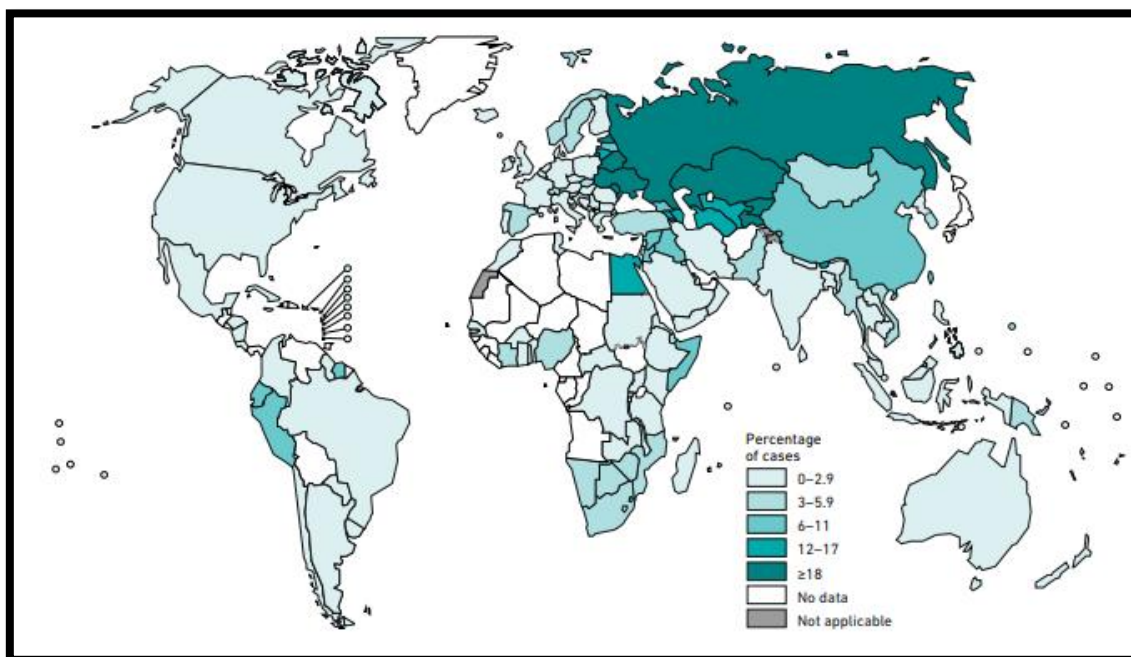


Figura 1. Porcentaje de nuevos casos con TB MDR o TB resistente a RIF en pacientes nuevos. (Fuente: Global Tuberculosis report, OMS, 2018)

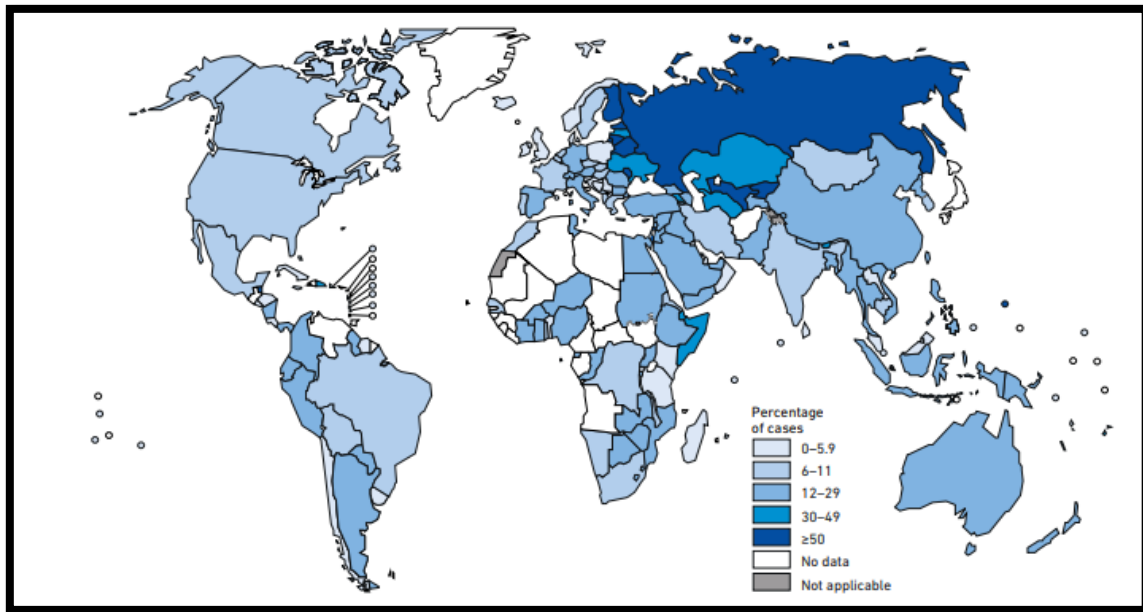


Figura 2. Porcentaje de TB MDR o TB resistente a RIF entre pacientes previamente tratados (Fuente: Global Tuberculosis report, OMS, 2018)

2.2.2. Epidemiología de la TB en Angola

La República de Angola es uno de los 14 países incluidos en las tres listas de la OMS de mayor carga de TB: mayor carga de TB, mayor carga de TB MDR y mayor carga de coinfección TB/VIH (20) (Figura 3). La incidencia anual estimada de TB es de 359 (95% IC 232-512) casos por 100.000 habitantes, estimándose 107.000 nuevos casos de TB en 2017 y 27.700 muertes por TB en el país (21). La tasa de éxito del tratamiento de pacientes con TB es del 27% en casos nuevos y del 28% en casos previamente tratados, muy lejos del 90% recomendado por la OMS (22). En 2017, la OMS estimaba que 2,5% de casos nuevos y 14% de casos previamente tratados estaban infectados por una cepa de TB MDR (21).

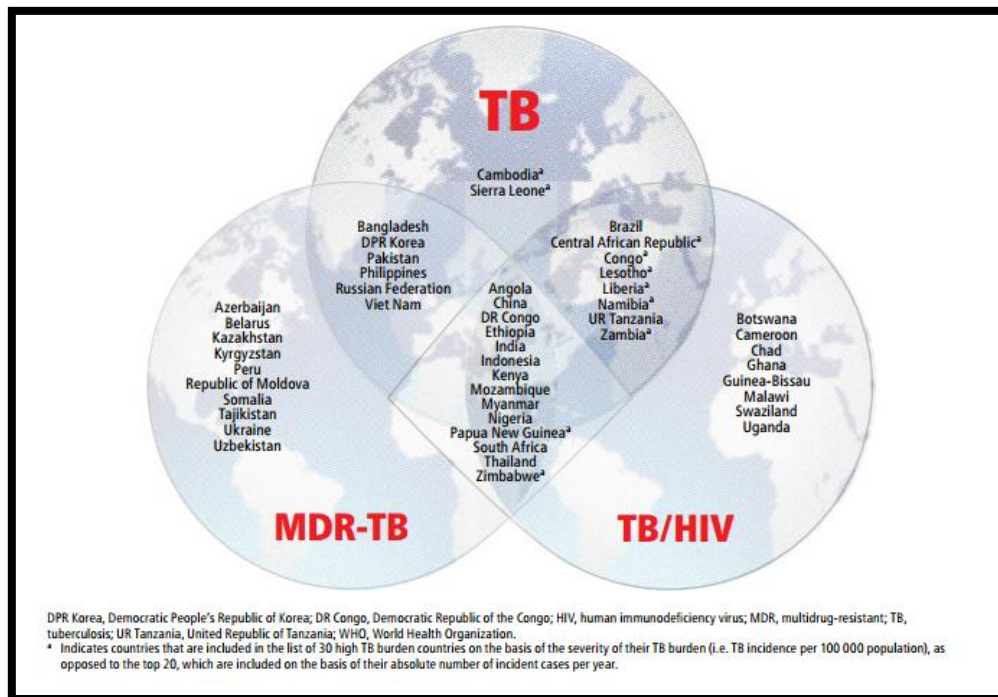


Figura 3. Países incluidos en las tres listas de la OMS de alta carga de TB (TB, coinfección VIH-TB y TB MDR). Fuente: OMS 2015

Hasta 2014 no existía en el país tecnología con la capacidad de diagnóstico rápido de resistencias a fármacos antituberculosos, y hasta día de hoy no existen tampoco laboratorios con capacidad de realizar cultivos de micobacterias, por lo que los datos sobre resistencias a fármacos antituberculosos se basaban exclusivamente en estimaciones, desconociéndose la situación real de la TB MDR en el país. Según el informe de la OMS de 2016, la República de Angola es uno de los 3 países en los que nunca se ha realizado un estudio nacional sobre la prevalencia de TB MDR (23).

En el municipio de Cubal, el diagnóstico de la TB se basaba hasta el año 2014 y al igual que en el resto del país en la baciloscopía, desconociéndose la prevalencia de TB MDR. En 2013 nuestro equipo investigador publicó un trabajo en el que se estudió de manera retrospectiva una cohorte de pacientes con TB que había sido tratada con fármacos de primera línea. En este estudio se evidenció que un 6,4% de pacientes presentaron fracaso terapéutico, porcentaje que aumentaba hasta el 18,2% en aquellos pacientes que habían sido previamente tratados para TB. Estos datos hicieron pensar que una de las causas del fracaso al tratamiento de primera línea era la existencia de resistencias a estos fármacos. Este trabajo está incluido como anexo en esta tesis doctoral.

2.3. DIAGNÓSTICO DE LA TB MDR

2.3.1. Métodos fenotípicos de detección de resistencia:

El diagnóstico de certeza de la tuberculosis se basa en el cultivo y la determinación de resistencia a fármacos en la realización de pruebas de sensibilidad a fármacos antituberculosos, siendo procesos enormemente lentos que requieren primero el crecimiento de la micobacteria y posteriormente la realización del antibiograma.

El crecimiento de la micobacteria puede realizarse tanto en medio sólido como en medio líquido. Los medios de cultivo más frecuentemente utilizados son los siguientes: Löwenstein–Jensen, agar Middlebrook 7H10, agar Middlebrook 7H11 y el caldo de Middlebrook 7H9. El crecimiento de las bacterias en los medios sólidos se realiza mediante la visualización de las características macroscópicas de las colonias. En los medios líquidos el crecimiento de las bacterias se detecta por turbidez del medio y posterior observación microscópica.

Una mejora en la rapidez del diagnóstico de la tuberculosis es la utilización de sistemas de cultivo automáticos. El sistema automatizado BACTEC MGIT 960® (Becton Dickinson Diagnostic Instrument System, Inc.) utiliza los viales de MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) para detectar el crecimiento micobacteriano. El MGIT consiste en un medio líquido de cultivo que contiene el caldo de Middlebrook 7H9 modificado. La detección del crecimiento bacteriano es diferente según el sistema automatizado utilizado. El MGIT además del medio líquido 7H9 Middlebrook modificado contiene una molécula que produce fluorescencia que consiste en un fluorocromo unido a una partícula que inhibe la fluorescencia. Esta molécula está adherida a la silicona de la parte inferior del tubo. Durante el crecimiento bacteriano dentro del tubo se utiliza el oxígeno libre y se reemplaza

por dióxido de carbono. Con el agotamiento de oxígeno libre el fluorocromo ya no se inhibe, lo que produce fluorescencia dentro del tubo MGIT. Esta fluorescencia se visualiza bajo luz UV. La intensidad de la fluorescencia es directamente proporcional al grado de agotamiento de oxígeno.

Como ya se ha mencionado anteriormente, el antibiograma de MTB se basa en la realización del estudio de sensibilidad frente a los fármacos utilizados en el tratamiento de la tuberculosis. Los métodos fenotípicos convencionales para la detección de resistencias se pueden realizar en medios de cultivo sólidos y líquidos. Cuando se utilizan medios de cultivo sólidos hay tres métodos distintos de realización del antibiograma (24):

-Método de las concentraciones absolutas: Compara el crecimiento de la cepa a estudio en un medio con una concentración crítica de cada fármaco y en un medio libre de fármaco, considerándose sensible si hay un número menor de 20 colonias creciendo en presencia del fármaco.

-Método de la razón de resistencias: Compara la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de la cepa que se está estudiando con la CMI de una cepa de referencia (H37Rv). El denominado “ratio de resistencia” es el cociente entre la CMI de la cepa problema y la CMI de la cepa estándar H37Rv. Una relación de resistencia igual o inferior a 2 indica que la cepa es sensible a ese fármaco. Una relación de resistencia igual o superior a 8 indica que la cepa es resistente. Una relación de 4 señala que la cepa está muy en el límite de la sensibilidad y debería repetirse la prueba; si en la repetición se vuelve a obtener una relación de 4 se considera definitivamente como resistente.

-Método de las proporciones. Consiste en calcular la proporción de bacilos resistentes que están presentes en un cultivo. Utilizando dos diluciones de bacilos, una más

alta y otra más baja, se inoculan en medios de cultivo con y sin antibiótico, con el fin de obtener colonias cuantificables. La relación entre el número de colonias obtenidas en el medio con antibiótico y el número de colonias obtenidas en el medio sin antibiótico, indica la proporción de bacilos resistentes (capaces de crecer bajo el efecto del fármaco) presentes en el cultivo. Por debajo del 1%, la cepa se clasifica como sensible y por encima, como resistente. La resistencia del microorganismo es clínicamente significativa cuando al menos un 1% del total de la población bacteriana es resistente a la concentración crítica. El método de las proporciones, con respecto a los métodos anteriores, es el más exacto y el que menos falsos resultados proporciona, por lo que es el más ampliamente utilizado en todo el mundo. Inicialmente la técnica se diseñó para su utilización en medio de Löwenstein-Jensen y para los fármacos de primera línea, exceptuando la pirazinamida (PZN). Posteriormente el método de las proporciones se adaptó a diferentes medios de cultivo como el agar Middlebrook 7H10 y 7H11.

Los métodos para la realización del antibiograma de MTB basados en medios de cultivo líquido constituyen actualmente la opción más utilizada en los países desarrollados. Uno de los métodos más empleado en los laboratorios es el BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson Diagnostic Instrument System, Inc.). Permite obtener resultados de pruebas de susceptibilidad a drogas antituberculosas en un menor tiempo que el método de las proporciones ya que utiliza medios de cultivo líquidos, lo que reduce el tiempo de obtención de resultados a 10 días y permite además hacerlo a gran escala (permite 960 cultivos).

Los métodos fenotípicos para algunos fármacos como son la RIF, INH, fluoroquinolonas y aminoglucósidos son generalmente reproducibles y fiables. Sin embargo, los puntos de

corte no quedan claros para los nuevos fármacos recomendados por la OMS para el tratamiento de la TB MDR, como son la delamanida y bedaquilina. Existe además una necesidad de reevaluar las concentraciones críticas de otros fármacos como son las tionamidas, cicloserina y PZN (25).

2.3.2. Métodos genotípicos de detección de resistencia:

Durante los últimos años se han desarrollado nuevas herramientas de diagnóstico rápido de TB, basándose en técnicas moleculares que detectan regiones específicas del DNA del genoma de la micobacteria que se asocian a resistencia a fármacos antituberculosos. Estos métodos presentan varias ventajas con respecto a los métodos fenotípicos, como son la rapidez en dar los resultados, la estandarización del proceso y los requerimientos reducidos necesarios para su realización. Existen varias pruebas de detección de resistencia a fármacos como son:

-Xpert MTB/RIF assay (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA): Este método permite detectar de forma automatizada la existencia de MTB complex y de resistencia a la RIF, detectando mutaciones en la región determinante de resistencia a RIF (RRDR) del gen *rpoB* con una alta sensibilidad y dando un resultado en apenas 2 horas (26). Es la única prueba recomendada por la OMS capaz de detectar MTB complex y resistencia a la RIF que puede utilizarse a cualquier nivel, sin necesitar tecnología sofisticada de laboratorio. La OMS recomienda su uso en todos los pacientes (niños y adultos) con sospecha de TB como prueba inicial. Es una prueba que puede realizarse directamente en muestra clínica sin necesidad de procesarla previamente y las únicas condiciones que requiere para su uso son las de suministro eléctrico ininterrumpido, y un mantenimiento básico.

-Xpert MTB/RIF ultra: Al igual que el Xpert MTB/RIF permite la detección automatizada tanto de MTB complex como de la resistencia a la RIF. El límite de detección es más bajo que el del Xpert MTB/RIF, lo que le da una mayor sensibilidad. Sin embargo, estudios recientes han objetivado una menor especificidad (27, 28).

- LPAs (line probe assays). Existen cuatro pruebas comercializadas, una que permite la detección de resistencia a RIF, otra que permite la detección de resistencia a RIF e INH, otra que permite la detección de resistencia a fármacos aminoglucósidos, fluoroquinolonas y etambutol, y otra que permite la detección de resistencia a fármacos aminoglucósidos y fluoroquinolonas (inno-LIPA RIF-TB, GenoType MTBDRplus 2.0,

Genotype MTBDRsl 1.0 y Genotype MTBDRsl 2.0). La desventaja de estas pruebas es que la sensibilidad disminuye en muestras con una baciloscopia negativa (29, 30). Al igual que el Xpert MTB/RIF, la resistencia a la RIF viene dada por la detección de mutaciones en la RRDR a RIF del gen *rpoB*. La resistencia a la INH se diagnostica por la detección de mutaciones en los genes *inhA* y *katG*, que aparecen en un 20-35% y 50-85% de cepas resistentes a este fármaco respectivamente. Sin embargo, no todas las mutaciones en estos genes confieren el mismo nivel de resistencia a la INH, existiendo casos en los que dosis altas del fármaco podrían utilizarse para tratar cepas codificadas como resistentes (caso de mutaciones en el gen *inhA* que se asocia además a resistencia a tionamidas) (31-36). El diagnóstico de resistencias a aminoglucósidos se basa en la detección de mutaciones en el gen *rrs* y en la región promotora del gen *eis*; y la detección de resistencias de quinolonas en las mutaciones en los genes *gyrA* and *gyrB*. La especificidad es alta, aunque en los casos en los que la prueba no detecta resistencia, deberían realizarse métodos fenotípicos, especialmente en áreas con alta prevalencia de resistencias a estos dos grupos de fármacos (30). Además requieren una estructura compleja de laboratorio, ya que necesitan la extracción del material genético desde la muestra clínica y la amplificación del mismo (37).

Aunque en general la concordancia entre pruebas genotípicas y fenotípicas es buena, la asociación entre las mutaciones genéticas y el patrón de resistencias fenotípicas no es completa (38).

2.4. TRATAMIENTO DE LA TB MDR

El tratamiento de la TB es complejo por varias razones: el bacilo es intrínsecamente resistente a muchos de los antibióticos más utilizados, los bacilos de la TB presentan 4 estados que hay que tener en cuenta a la hora de diseñar un régimen terapéutico y el tiempo medio de crecimiento de la micobacteria es largo.

Para el diseño de un tratamiento eficaz, hay que tener en cuenta las cuatro fases en las que pueden encontrarse los bacilos de la TB: 1.-Activas metabólicamente y en crecimiento, localizados principalmente en las paredes de las cavidades pulmonares, extracelulares y principales responsables del desarrollo de resistencias; 2.-Bacilos en fase de inhibición ácida, localizados en zonas de poca oxigenación y en el interior de los macrófagos, cuyo

crecimiento está inhibido por el pH ácido de las lesiones, y responsables de las recaídas; 3.-Bacilos en fase de multiplicación esporádica, normalmente localizados en el caseum, también responsables de las recaídas, con largos periodos sin actividad y sólo unas horas de actividad y 4.-Población dormida, contra las que el tratamiento farmacológico no es eficaz.

La base del tratamiento para la TB se basa en la combinación de al menos 4 fármacos activos, para disminuir la probabilidad de aparición de resistencias.

Por definición todas las cepas de TB MDR son resistentes a RIF, por lo que no se considera el uso de este fármaco. Además, la mayoría de cepas presentan resistencias cruzadas a la rifapentina, aunque un 10-15% son sensibles a rifabutina. Sin embargo, no existe evidencia de la correlación entre la susceptibilidad in vitro y en vivo, por lo que en general el grupo de las rifamicinas no se utiliza. Las cepas de TB MDR son también resistentes a INH, aunque alguno de los mecanismos que confieren resistencias a este fármaco hace posible la utilización de la INH. Los principales mecanismos de resistencia a este fármaco son dos: mutaciones en el gen *inhA* y mutaciones en el gen *kat G*. La INH es un profármaco que debe activarse por una enzima catalasa peroxidasa regulada por el gen *kat G*, por lo que una mutación en este gen confiere alta resistencia a INH, haciendo el fármaco insensible. Una vez activa la droga, esta actúa en diferentes lugares, siendo el más importante la región promotora *inhA*. La mutación en esta región confiere baja resistencia a INH que puede compensarse con altas dosis de fármaco, pero confiere además resistencia a tionamidas. Se ha observado que en pacientes con cepas que llevan esta mutación, añadir INH a altas dosis aumenta la velocidad de conversión del esputo y aumenta las probabilidades del éxito del tratamiento (39). La PZN es otro fármaco que debe sumarse al tratamiento de las MDR independientemente de la sensibilidad a la misma, porque no está claro la correlación in vivo e in vitro (40).

Existen además evidencias y estudios de farmacodinámica-farmacocinética en los que se ha observado que altas dosis de los fármacos antes mencionados (INH, RIF, PZN) podrían utilizarse para el tratamiento de cepas MDR (39, 41). Pese a todo lo comentado anteriormente, el tratamiento de la TB MDR se ha basado de forma clásica en el uso

combinado de al menos 4 fármacos eficaces sin incluir RIF e INH y sin contar como eficaz la PZN.

2.4.1. Guías de la OMS para el tratamiento de la TB MDR

En 2006 la OMS publicó las primeras guías para el tratamiento de la TB MDR, en las que se clasificaban los fármacos antituberculosos en 5 grupos según la actividad antituberculosa de los mismos y recomendaba un esquema terapéutico con al menos 4 fármacos activos, utilizándose un aminoglucósido durante al menos 6 meses y estableciendo una duración mínima de tratamiento de al menos 18 meses tras la conversión del cultivo de esputo. La construcción del régimen debía estar compuesta por al menos un fármaco inyectable (grupo 2) y una quinolona (grupo 3), completando el esquema con fármacos del grupo 4. En caso de que no pudiera conseguirse un régimen con 4 fármacos activos con los 4 primeros grupos se estableció un grupo 5 en los que se incluían fármacos con dudosa actividad antituberculosa que se podían utilizar para completar el esquema (Tabla 1).

Grupo 1: Antituberculosos de primera línea orales	Isoniazida, Rifampicina, Etambutol, Pirazinamida
Grupo 2: Antituberculosos inyectables	Estreptomina, Kanamicina, Amikacina, Capreomicina
Grupo 3: Fluoroquinolonas	Moxifloxacino, Levofloxacino, Ofloxacino
Grupo 4: Bacteriostáticos orales de segunda línea	Etionamida, Protionamida, Cicloserina, Ácido paraaminosalicílico.
Grupo 5: Fármacos de eficacia no demostrada	Clofazimina, Linezolid, Amoxicilina-ácido clavulánico, Tioacetazona, imipenem/cilastina, altas dosis de Isoniazida (16-20 mg/Kg), Claritromicina.

Tabla 1. Grupos de fármacos para el tratamiento de la TB MDR. Fuente: Guías de tratamiento de TB MDR. OMS. 2006.

Desde entonces y hasta el año 2016 se han realizado pocos cambios en las recomendaciones de tratamientos. En 2010 un estudio realizado en Bangladesh observó un

89% de éxito en pacientes con TB MDR tratados con un régimen de 9 meses de duración (42). Este estudio animó a diferentes programas nacionales de control de TB como el de Benin, Níger y Camerún a probar regímenes similares con una duración de 12 meses, observándose porcentajes similares de éxito (43, 44). Tras estos nuevos datos y pese a no existir en el momento estudios aleatorizados y controlados comparando los nuevos regímenes probados en estudios observacionales, las nuevas guías de la OMS contemplaban, por primera vez, la utilización de un régimen corto de tratamiento para la TB MDR en aquellos pacientes que no hubieran sido tratados previamente con inyectables y en los que la resistencia a aminoglucósidos y fluoroquinolonas fuera excluida (45).

En 2017 se conocieron los primeros datos del primer estudio aleatorizado que comparaba el nuevo esquema acortado propuesto por la OMS y los tratamientos de 20 meses clásicos. El STREAM trial observó que, bajo condiciones de ensayo clínico, el esquema terapéutico de 9 meses consiguió un éxito de tratamiento en 78,1% de los pacientes, en comparación a 80,6% de la pauta estándar de 20 meses de duración, sin observarse diferencias en el desarrollo de efectos adversos (46). Los resultados de este estudio han hecho que las recomendaciones de la OMS publicadas en las guías de 2016 no hayan variado en 2018 en cuanto a la recomendación de esquemas de tratamiento acortados.

Son varios los ensayos clínicos para el tratamiento de la TB MDR que se han iniciado durante los últimos años (Tabla 2).

Nombre del estudio	Diseño del estudio	Inicio del estudio	Resultados disponibles
STREAM estadio 2	1: Tratamiento estándar de la OMS 2: Cfz, EMB, Mfx, PZN (40 sem) +INH, Km, Pto (Prim 16 sem) 3: Bdq, Cfz, EMB, Lfx, PZN (40 sem) + INH, Pto (Prim 16 sem) 4: Bdq, Cfz, Lfx, PZN (28 sem) + INH, Km (Prim 8 sem)	2016	2021
EndTB	1: Bdq, Lzd, Mfx, PZN (9 meses) 2: Bdq, Cfz, Lzd, Lfx, PZN (9 meses) 3: Bdq, Dlm, Lzd, Lfx, PZN (9 meses) 4: Dlm, Cfz, Lzd, Lfx, PZN (9 meses) 5: Dlm, Cfz, Mfx, PZN (9 meses) 6. Tratamiento estándar de la OMS (18–24 meses)	2016	2022
EndTB Q	1: Bdq, Dlm, Cfz, Lzd (6 meses) 2: Bdq, Dlm, Cfz, Lzd (9 meses) 3: Tratamiento estándar de la OMS	2016	2022
NixTB	1: Bdq, Pa, Lzd (6 meses) + opción de 9 meses para aquellos con cultivo positivo a los 6 meses	2015	2019
MDR-END	1: Dlm+Lzd, Lvx, PZN (9-12 meses) 2: Tratamiento estándar OMS	2016	2021
ZeNiX	1. 1200 mg Lzd, Pa, Bdq (26 sem) 2. 1200 mg Lzd (9 sem) + Pa y Bdq 26 semanas 3. 600 mg Lzd, Pa y Bdq (26 sem) 4. 600 mg Lzd (9 sem)+Pa y Bdq (26 sem)	2018	2022
TB-PRACTECAL	1. Bdq, Pa, Mfx, Lzd (6 meses) 2. Bdq, Pa, Lzd, Cfz (6 meses) 3. Bdq, Pa, Lzd (6 meses) 4. Tratamiento estándar de la OMS	2017	2021
NeXT-5001	1. Km, Mfx, PZN, Eto, Trd (6–8 meses) + 4 Mfx, PZN, Eto, Trd (18 meses) 2. Lzd, Bdq, Lfx, PZN + Eto ó altas dosis de INH o Trd (6–9 meses)	2015	2019
SimpliciTB	Bdq, Pa, Mfx, PZN (6meses)	2018	2022

Tabla 2. Ensayos clínicos en TB MDR.

Cfz: Clofazimina, EMB: Etambutol, Mfx: Moxifloxacino, PZN: Pirazinamida, INH: Isoniazida, Km: Kanamicina, Pto: Protionamida, Prim: Primeras, Sem: Semanas, Bdq: Bedaquilina, Lfx: Levofloxacino, Lzd: Linezolid, Dlm: Delamanida, Pa: Pretomanida, Eto: Etiomanida, Trd: Terizidona

Todos estos estudios, la aparición de nuevos fármacos y la reutilización de fármacos ya existentes han provocado un cambio importante en las recomendaciones de la OMS, publicándose las nuevas guías de 2019 en la que los grupos de fármacos han cambiado completamente tal y como se muestra en la tabla 3. En la actualidad, la recomendación para el tratamiento de la TB MDR es la de utilizar un esquema sin inyectables, priorizando los fármacos del grupo A.

Grupo	Fármacos
Grupo A:	Levofloxacino o Moxifloxacino Bedaquilina Linezolid
Grupo B:	Clofazimina Cicloserina o Terizidona
Grupo C:	Etambutol Delamanida Pirazinamida Imipenem-cilastina o Meropenem Amikacina Etionamida o Protionamida Ácido paraaminosalicílico

Tabla 3. Grupos de fármacos para el tratamiento de la TB MDR. Fuente: WHO 2018.

2.4.2 Guías de Angola para el tratamiento de la TB

Las guías nacionales de Angola recomendaban, en el momento en el que se iniciaron los estudios que componen esta tesis, un tratamiento basado en 2 meses de RIF, INH, PZN y etambutol (EMB) seguidos de 4 meses de RIF e INH en los pacientes con un primer diagnóstico de TB. Para aquellos pacientes tratados previamente, las guías recomendaban un esquema de dos meses de RIF, INH, PZN, EMB y STR, seguidos de un mes de RIF, INH, PZN y ETH y 5 meses de RIF, INH, y EMB tal y como recomendaba la OMS en 2003 (47).

3.-JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO E HIPÓTESIS DEL ESTUDIO

3.1. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

La TB MDR es una de las amenazas más importantes para el control de la TB a nivel mundial. En Angola, país donde se han llevado a cabo los estudios que componen esta tesis, no existía hasta la fecha de inicio del primero de los proyectos, ningún estudio epidemiológico sobre la prevalencia de esta enfermedad. El Hospital Nossa Senhora da Paz, localizado en el municipio de Cubal, provincia de Benguela, es un centro de referencia de TB a nivel nacional, en el que se diagnostican cada año unos 1000 pacientes con TB.

Un estudio publicado por nuestro grupo, adjunto en el anexo de esta tesis doctoral, puso de manifiesto una tasa de éxito baja en aquellos pacientes que recibían tratamiento para TB sensible, por lo que se pensó que una de las causas de este bajo éxito terapéutico era la existencia de TB MDR en la zona. La necesidad de conocer la epidemiología de esta enfermedad fue la que motivó el inicio del primero de los estudios, en el que se incorporó una técnica de diagnóstico rápido para la detección de resistencia a la RIF, además de enviarse muestras de esputo al laboratorio de microbiología del Hospital Vall d'Hebron para realizarse el cultivo y la sensibilidad a antibióticos. Este estudio constituye el primer artículo de esta tesis.

Por otro lado, el manejo de la TB MDR es tremendamente complejo. Hasta 2018, los regímenes recomendados por la OMS incluían varios fármacos, entre ellos fármacos inyectables, con una duración de al menos 18 meses. Los estudios publicados sobre la eficacia de estos regímenes, así como los efectos secundarios de los mismos variaba mucho entre unos estudios y otros, sin existir ninguna cohorte de pacientes con TB MDR tratada en Angola. El segundo estudio pretendía describir el éxito de un régimen estandarizado para el tratamiento de la TB MDR recomendado en ese momento por la OMS, así como analizar los efectos secundarios relacionados con el mismo y analizar las variables que se asocian al desarrollo de efectos adversos.

3.2. HIPÓTESIS DEL TRABAJO

-La prevalencia de TB MDR es alta entre los pacientes atendidos en el Hospital Nossa Senhora da Paz en Cubal, Angola

-El Xpert MTB/RIF supone una herramienta útil, sensible y específica, para el diagnóstico rápido de TB MDR en la zona.

-Un porcentaje importante de pacientes que inicien tratamiento para la TB MDR con un régimen estandarizado presentarán efectos adversos relacionados con el tratamiento.

-La aparición de efectos secundarios se relaciona con el éxito del tratamiento.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO PRINCIPAL

-Conocer la relevancia de la TB MDR en el Hospital Nossa Senhora da Paz, Cubal, Angola.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-Conocer la prevalencia de la TB MDR en el municipio de Cubal.

-Conocer los factores de riesgo relacionados con el desarrollo de la TB MDR en el área de Cubal.

-Conocer la sensibilidad y especificidad del Xpert MTB/RIF en un área rural de Angola.

-Conocer el éxito terapéutico de un tratamiento estandarizado para la TB MDR y los efectos adversos asociados.

5.-ARTÍCULOS PUBLICADOS

5.1 ARTÍCULO 1

Título: Prevalence and risk factors of multidrug-resistant TB in Cubal, Angola: a prospective cohort study.

Autores: María Luisa Aznar, Ariadna Rando Segura, Milagros Moreno, Mateu Espasa, Elena Sulleiro, Cristina Bocanegra, Eva Gil, Arlete Nindia Eugenio, Adriano Zacarias, Domingos Katimba, Estevao Gabriel, Jacobo Mendioroz, María Teresa López, Tomás Pumarola, María teresa Tórtola, Israel Molina.

Artículo publicado: International Journal of TB and Lung Disease, 2019 Enero 1; 23:67-72. doi: 10.5588/ijtld.18.0231. Factor de impacto 2017: 2,392

5.2. ARTÍCULO 2

Título: Treatment outcomes and adverse effects from a standardized MDR TB regimen in a rural setting in Angola.

Autores: María Luisa Aznar, Ariadna Rando Segura, Milagros Moreno, Mateu Espasa, Elena Sulleiro, Cristina Bocanegra, Eva Gil, Arlete Nindia Eugenio, Adriano Zacarias, Domingos Katimba, Estevao Gabriel, Jacobo Mendioroz, María Teresa López, Tomás Pumarola, María teresa Tórtola, Israel Molina.

Artículo publicado: American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 2019 Jul 22. doi: 10.4269/ajtmh.19-0175, Factor de impacto 2017; 2,564

6. RESULTADOS

En el primer trabajo se incluyeron un total de 468 pacientes con un diagnóstico de TB pulmonar basado en baciloscopia, de los cuales 422 (90,2%) tuvieron resultados de cultivo de esputo. Doscientos sesenta (61,6%) eran hombres, con una media de edad de 32,3 años (DE 12,2). De ellos, 311 (73,7%) pacientes nunca habían recibido tratamiento para TB (pacientes nuevos). El cultivo de esputo resultó positivo en 225 pacientes nuevos y en 83 pacientes previamente tratados. La prevalencia de TB MDR fue de 71,1% en pacientes previamente tratados y del 8,0% en pacientes que no habían recibido tratamiento previo.

La sensibilidad del Xpert MTB/RIF para la detección de MTB fue del 97,9%, sin embargo, la especificidad global fue del 13,2%. El Xpert MTB/RIF detectó la presencia de MTB en 33 de 38 (86,8%) muestras de esputo en los que el cultivo tuvo un resultado negativo. Por el contrario, en 3 de las 11 (27,3%) muestras de esputo en las que el cultivo fue positivo, el Xpert MTB/RIF no detectó TB. En cuanto a la detección de resistencia a RIF, el Xpert MTB/RIF detectó resistencia a la RIF en 75/76 (98,7%) de las muestras en las que el antibiograma confirmó la resistencia a RIF. Sin embargo, en 7 de 61 (11,5%) muestras en las que no se evidenció resistencia a RIF por antibiograma, el Xpert MTB/RIF detectó resistencia a este fármaco.

Los factores de riesgo asociados a TB MDR fueron el sexo masculino (OR 2,95; IC del 95% 1,35–6,44; $p = 0,007$), el tratamiento antituberculoso previo (OR 20,86; IC del 95% 9,53–45,67; $p = 0,001$), el engrosamiento pleural (OR 7,68; IC del 95% 1,57–37,43; $p = 0,012$) y la duración de enfermedad superior a 4 meses (OR 3,34, IC del 95% 1,45–7,69; $p = 0,005$).

El éxito del tratamiento se alcanzó en 159 de 231 (68,8%) pacientes con TB no MDR y en 35 de 77 (45,5%) pacientes con TB MDR que habían terminado el tratamiento al finalizar el estudio. Cuarenta y nueve (21,2%) pacientes infectados por TB no MDR y 27 (35,1%) de los infectados por TB MDR abandonaron el tratamiento. El fracaso terapéutico entre los pacientes no MDR se asoció a tener una baciloscopia positiva al segundo mes de tratamiento (OR 10,58; IC del 95% 2,54–44,11; $p = 0,001$).

Este trabajo confirma que la prevalencia de TB MDR en el área de Cubal es más alta que la estimada por la OMS para Angola, por lo que se necesitan de manera urgente facilidades para poder realizar el diagnóstico temprano de esta enfermedad y poder asegurar un tratamiento adecuado.

En el segundo artículo se incluyeron 216 pacientes tratados con un régimen estandarizado de TB MDR (8 meses de aminoglucósido que podía ser kanamicina, amikacina o capreomicina según la disponibilidad del PNLT, más ofloxacino, etionamida, cicloserina, isoniazida y etambutol seguido de 12 meses de ofloxacino, etionamida, cicloserina, isoniazida y etambutol). De ellos, 124 (57,4%) eran hombres, la mediana de edad fue de 30 años (RIQ 24,2-38,0) y 13 (6%) estaban coinfectados por el VIH. Doce pacientes eran menores de 15 años, con una mediana de edad de 9 años (RIQ 2-11,5). El tratamiento de segunda línea se inició en 88 pacientes de manera empírica y en 128 por la detección de resistencia a RIF mediante Xpert MTB/RIF. Se analizaron 125 muestras de esputo, de las cuales se detectó MTB en 101 y en 92 se confirmó una infección por TB MDR.

Ciento setenta y nueve (82,9%) pacientes presentaron al menos un efecto adverso, y 2 pacientes se suicidaron durante el tratamiento. Los efectos adversos observados y sus frecuencias fueron las siguientes: hepatotoxicidad (46,8%), nefrotoxicidad (44,4%), ototoxicidad (40,7%), neuropatía periférica (31,9%), afectación psiquiátrica (21,3%), alteración gastrointestinal (23,1%), alteración dermatológica (11,6%), artralgias (6,0%), ginecomastia o impotencia (5,5%) y convulsiones (1,0%). Todos los efectos adversos se manejaron inicialmente de manera sintomática, requiriéndose la reducción de dosis de al menos un antibiótico en 42/216 (19,4%) pacientes y la suspensión temporal de al menos un antibiótico en 12/216 (5,6%) pacientes. La suspensión permanente de alguno de los antibióticos fue necesaria en 42 (19,4%) pacientes. Los efectos secundarios fueron permanentes en 58 (32,4%) de los pacientes tras completar el tratamiento: hipoacusia en 38 (21,2%) pacientes, polineuropatía en 8 (4,5%) y ambas en 12 (6,7%) pacientes. Cincuenta y cuatro (25,0%) pacientes experimentaron al menos un efecto adverso grave.

El haber recibido tratamiento para la TB previamente se asoció tanto al desarrollo de efectos adversos como al desarrollo de efectos adversos graves (OR 4,89; IC del 95% 2,09-11,46; $p < 0,001$ y OR 9,99, IC del 95% 2,47-40,34; $p = 0,002$ respectivamente) y la duración

del tratamiento se asoció a la aparición de un efecto adverso grave (OR 1,11 IC del 95% 1,04-1,18; $p=0,001$). El tratamiento tuvo éxito en 117 (54,2%) pacientes y 57 (26,4%) pacientes abandonaron. La incidencia de efectos adversos se asoció a la falta de éxito del tratamiento (OR 1,23; IC del 95% 1,09-1,40; $p=0,001$).

Este trabajo confirma que el tratamiento de la TB MDR con un régimen estandarizado de 20 meses de duración en el que se incluyen fármacos inyectables se asocia a una alta proporción de efectos secundarios, y que la aparición de efectos adversos se relaciona con haber recibido previamente tratamiento para la TB, así como con la duración del tratamiento. El éxito del tratamiento con este régimen es bajo y existe una alta proporción de abandonos. La incidencia de efectos adversos se relaciona con la falta de éxito del tratamiento.

7. DISCUSIÓN

El objetivo principal de esta tesis es el de conocer la relevancia de la TB MDR en Cubal, Angola. Para ello consideramos necesario conocer en un primer paso la prevalencia de la enfermedad mediante el análisis de muestras de esputo tanto por métodos rápidos como por cultivo. De igual forma consideramos necesario evaluar el éxito de un tratamiento estandarizado para las personas diagnosticadas de TB MDR, así como los efectos adversos relacionados con él. En este sentido el segundo artículo es una continuación del primero, por lo que se discutirán los resultados más relevantes de ambos artículos de forma continua.

Prevalencia de la TB MDR en Cubal, Angola

Hasta el momento de la elaboración de esta tesis, no existían en Angola datos sobre la prevalencia de la TB MDR, por lo que nuestro estudio supuso la primera fuente de información sobre esta enfermedad en el país. Observamos una proporción de TB MDR de un 71,1% en los pacientes que habían recibido tratamiento para TB previamente y de un 8% en pacientes sin tratamiento previo. Esta prevalencia es mucho más alta que la estimada por la OMS para Angola (21) y una de las más altas en el mundo en pacientes previamente tratados (48).

Dentro de la lista de los 30 países con mayor carga de TB MDR del mundo hay 9 países africanos; Angola, República Democrática de Congo, Etiopía, Kenia, Mozambique, Nigeria, Somalia, Sudáfrica y Zimbabwe. Los últimos estudios realizados en estos países describen prevalencias de TB MDR más bajas que las encontradas en nuestro estudio, entre un 2 y un 6,6% en casos nuevos y de 4,6 a 15% en pacientes previamente tratados ((49), (50). Un reciente meta-análisis sobre la prevalencia de TB MDR en África subsahariana describe una prevalencia global del 2.1% en pacientes sin tratamiento previo (51). La alta prevalencia de TB MDR encontrada en nuestro estudio puede estar influenciada por la disponibilidad de tratamiento para TB MDR en el Hospital Nossa Senhora da Paz a diferencia del resto del país, lo que probablemente ha podido aumentar el número de pacientes con fracasos previos a esquemas terapéuticos de primera línea referidos desde otros centros. De hecho, 49 (44,1%) pacientes previamente tratados incluidos en nuestro

estudio habían sido referidos desde localidades que se encuentran a más de 50 Kilómetros (KMS) de Cubal. De todas maneras, todos los pacientes incluidos en el estudio provenían de la provincia de Benguela, y más de la mitad de los pacientes eran del municipio de Cubal o de municipios a menos de 50 KMS de distancia de Cubal. De hecho, si sólo tenemos en cuenta los pacientes de Cubal y de localidades ubicadas en un radio de 50 KMS de Cubal, el 8,4% de los pacientes nuevos y 56,8% de los pacientes previamente tratados estaban infectados por una cepa de TB MDR.

Otra de las causas que pueden justificar las altas prevalencias de TB MDR encontradas en nuestro estudio es la larga guerra civil que devastó Angola durante 27 años. La guerra impidió el desarrollo de programas de salud, produciéndose frecuentes faltas de abastecimiento de fármacos y movilizaciones de personas de un lado a otro, lo que dificultó la adhesión al tratamiento y el correcto seguimiento de pacientes, así como la formación del personal sanitario (52). Además, hasta hace unos años, no existían programas de tratamiento directamente administrado (TDO) en el manejo de los pacientes con TB, lo que probablemente pudo disminuir la adherencia al tratamiento y el desarrollo posterior de resistencias. Durante los últimos años, el PNLT ha implementado programas de TDO para el manejo de pacientes con TB, lo que con toda seguridad aumentará la adherencia al tratamiento y probablemente ayudará a la disminución del desarrollo de resistencias. Por el momento estos programas sólo se están utilizando para el tratamiento de TB sensible a fármacos, sin existir en el día de hoy TDO para pacientes con TB MDR.

Por otro lado, las guías nacionales de Angola para el tratamiento de la TB en casos que habían sido previamente tratados con fármacos antituberculosos se basaban en las recomendaciones de la OMS de 2003 en las que se utilizaba la Categoría II, que añadía STR al esquema terapéutico de primera línea y lo alargaba hasta 8 meses (53). Sin embargo, existen varios estudios que han observado que el uso de este esquema terapéutico en pacientes previamente tratados se asocia a altos porcentajes de fracasos y recaídas y que además puede asociarse a la amplificación de resistencias (54-56), factor que ha podido condicionar también los altos porcentajes de TB MDR encontrados en nuestro estudio. De hecho, la OMS no recomienda actualmente el uso de este esquema terapéutico.

Sensibilidad y especificidad del Xpert MTB/RIF en el diagnóstico de TB y detección de resistencia a la RIF

Uno de los objetivos específicos de esta tesis es el de conocer la utilidad del Xpert MTB/RIF para el diagnóstico de TB y de resistencia a la RIF en un contexto rural como el de Cubal, Angola. El Xpert MTB/RIF, tal y como se ha descrito en la introducción, permite el diagnóstico rápido de TB y de resistencia a RIF, y fue recomendado por la OMS en 2010 como prueba de diagnóstico inicial en pacientes infectados por el VIH y en aquellos con alto riesgo de estar infectados por una cepa de TB MDR, ampliándose esta recomendación en 2013 a todos los pacientes con sospecha de infección por TB (57, 58).

La utilización del Xpert MTB/RIF es relativamente fácil, los resultados pueden conocerse en un máximo de 2 horas, y su utilidad en terreno ha sido bien estudiada en diferentes países africanos (59-63). Pese a todas sus ventajas, el uso de esta técnica en países con alta carga de enfermedad es todavía baja. Un estudio reciente sobre la implementación del Xpert MTB/RIF en 22 países con alta carga de enfermedad mostró que este aparato se utilizaba como prueba de diagnóstico inicial tan sólo en determinados grupos de población, como enfermos con infección por el VIH, niños, pacientes con alto riesgo de TB MDR y pacientes con TB extrapulmonar. Pese a que, según este estudio, el ratio baciloscopia/Xpert MTB/RIF ha disminuido de 32,6 a 9,1 en los últimos años, el objetivo de usar el Xpert MTB/RIF en todos los pacientes con sospecha de TB tal y como aconseja la OMS queda todavía lejos (64). El hecho de utilizar técnicas de detección rápida de resistencia a la RIF sólo en determinados grupos de pacientes pasa por alto un número importante de pacientes infectados con cepas de MTB resistentes a este fármaco (65). Pese a ello, en nuestro estudio tan sólo se realizó un análisis con Xpert MTB/RIF en muestras de esputo de pacientes con riesgo de tener una infección por TB MDR. La razón de este algoritmo fue el de ser capaces de analizar el máximo de muestras posibles con los limitados recursos de los que disponíamos, priorizando la población con mayor riesgo de tener una TB MDR. Utilizando este algoritmo retrasamos el diagnóstico en 18 pacientes infectados por una cepa de TB MDR que, sin embargo, no habían recibido tratamiento previo. Es posible que este número sea más alto, ya que algunas de las muestras enviadas al laboratorio de referencia de Barcelona estaban contaminadas o tuvieron un resultado negativo. Pese a esta limitación, el uso racional de Xpert MTB/RIF permitió el diagnóstico

de un gran número de pacientes con infección por TB MDR que, de otra forma, no hubieran recibido tratamiento correcto.

La capacidad del Xpert MTB/RIF en diagnosticar resistencia a RIF fue similar a estudios previos. Tan sólo en un paciente la muestra de esputo fue catalogada como sensible a RIF mediante el uso del Xpert MTB/RIF y resistente a RIF por antibiograma. Como se ha mencionado anteriormente, el Xpert MTB/RIF diagnostica resistencia a RIF mediante la detección de mutaciones en la región RRDR del gen *rpoB* presente en el 95-97% de cepas de TB resistentes a RIF. Sin embargo, existen otros mecanismos que pueden conferir resistencia a este fármaco (66). Además, muestras clínicas con poblaciones mixtas de MTB (unas sensibles y otras resistentes a RIF) pueden también causar falsos negativos en la detección de resistencia a RIF (67). Al contrario, mutaciones silentes o mutaciones que confieren bajo nivel de resistencia a la RIF pueden ser detectadas mediante la técnica del Xpert MTB/RIF y no detectarse en el antibiograma (68). Este hecho podría explicar los 7 casos clasificados como resistentes a RIF mediante el Xpert MTB/RIF pero considerados como sensibles mediante la técnica del antibiograma. De hecho, en un estudio llevado a cabo por el servicio de microbiología del Hospital Vall d'Hebron, demostró mutaciones de genes que conferirían resistencias a RIF diferentes a las descritas previamente (69). Concretamente, en 4 casos las cepas de MTB eran portadoras de mutaciones que conferirían bajo nivel de resistencia, con un rango de CMI de 0.5 a 2 µg/ml. Las mutaciones con un bajo nivel de resistencia suponen un reto diagnóstico ya que sus CMIs son muy cercanas al punto de corte clínico, de manera que pequeñas variaciones (1/2 dilución) pueden hacer cambiar la interpretación clínica de estas cepas. No obstante, todas los mutantes detectados tienen una asociación fuerte o moderado con la resistencia fenotípica (ReSeqTB) y deberían ser considerados como tal, tratándose en este caso de un fallo de nuestro método fenotípico de detección de resistencias. En otros dos casos no se detectó ninguna mutación en la cepa cultivada. Esto podría ser debido a una falsa resistencia del Xpert MTB/RIF o a una población heterorresistente en la que se produjo una selección de la población sensible.

Por otro lado, el Xpert MTB/RIF confirmó la presencia de MTB en 33 de 38 muestras de esputo con cultivo negativo. Las causas de estos resultados pueden ser varias. Existen trabajos en los que se relacionan resultados falsamente positivos del Xpert MTB/RIF, en pacientes con TB pasada, baja carga genética y/o radiografías de tórax no compatibles con

TB (70). Por otro lado, se ha observado que las muestras de esputo analizadas por el Xpert MTB/RIF pueden permanecer positivas tras varios meses de tratamiento, motivo por el que no se utiliza esta técnica para el seguimiento de pacientes (71). Sin embargo, en nuestro estudio, todos los pacientes que fueron diagnosticados de TB mediante la técnica de Xpert MTB/RIF pero cuyos cultivos de esputo fueron negativos eran pacientes con sintomatología y radiología compatible con TB, por lo que realmente creemos que estos pacientes tenían una TB. Puede ser que el hecho de almacenar las muestras de esputo por un periodo de tiempo largo y las condiciones en las que estas muestras se transportaron desde Angola a España haya influido en el hecho de tener varios cultivos negativos. Sabemos que la viabilidad del bacilo disminuye con el tiempo (72), por lo que es posible que los hechos antes mencionados hayan influido en la negatividad de estos cultivos. En contraste, el Xpert MTB/RIF no detectó MTB en 3 muestras de esputo en las que el cultivo sí fue positivo para MTB. Las tres muestras eran de pacientes que no habían recibido tratamiento previo y que se recogieron inicialmente para la realización del cultivo, pero tras 2 meses de tratamiento para la realización del Xpert MTB/RIF. Es posible que una baja carga bacteriana en estos pacientes tras dos meses de tratamiento pudiera justificar estos resultados falsamente negativos, ya que se sabe que este hecho puede reducir la sensibilidad del Xpert MTB/RIF (59).

Factores de riesgo relacionados con la TB MDR

Otro de los objetivos específicos de esta tesis doctoral es el de conocer los factores relacionados con la TB MDR. Tanto el tratamiento antituberculoso previo, el sexo masculino, la presencia de engrosamiento pleural en la radiografía de tórax y la duración de la enfermedad fueron factores independientes relacionados con TB MDR en nuestro estudio.

El haber recibido tratamiento antituberculoso en el pasado se ha descrito como el factor de riesgo más importante para el desarrollo de TB MDR (73, 74). Los tratamientos con esquemas terapéuticos no adecuados, a dosis incorrectas o con adherencia irregular son las razones más importantes para el desarrollo de resistencias. Además del tratamiento previo, otros factores se han asociado con la presencia de TB resistente, como son la duración de la enfermedad, la carga bacilar y la presencia de cavidades en la radiografía de tórax (75).

En nuestro estudio observamos una relación entre la carga bacteriana en el esputo, la presencia de cavidades en la radiografía de tórax y el tener una infección por TB MDR en el análisis univariado. Sin embargo, esta relación no se observó en el estudio multivariado. Probablemente esto sea debido a que la presencia de cavidades en la radiografía de tórax se asocia a altas cargas bacterianas en el esputo (76), relación que puede justificar una falsa asociación con la TB MDR cuando se analizan ambas variables por separado. Sin embargo, el análisis conjunto de las mismas hace desaparecer tal asociación. El único hallazgo que nosotros observamos en la radiografía de tórax en relación con TB MDR fue la presencia de engrosamiento pleural. Este hecho podría ser debido a que es posible que el engrosamiento pleural fuera secundario a una infección tuberculosa previa que el paciente pudiera no haber recordado o mencionado, pero que hubiera tratado. Podría ser entonces que la relación fuera debida al tratamiento previo y no al engrosamiento pleural en sí.

El sexo masculino también se ha descrito como un factor de riesgo de TB MDR en algunos trabajos (77), aunque esta relación no es consistente en la literatura, y, según la OMS, el riesgo global de TB MDR es similar entre hombres y mujeres (48).

Otra variable relacionada con la TB MDR en otros estudios y sin embargo no observada en el nuestro es la infección por el VIH. Esta relación tampoco es consistente en la literatura (78-80) y no están claras las causas que podrían justificarla.

Resultados del tratamiento en pacientes con TB no MDR

El éxito global de tratamiento fue del 68,8% en pacientes que no estaban infectados por una cepa de TB MDR, porcentaje que está por debajo de los objetivos de la OMS definidos en la estrategia “End TB” (22), pero que, sin embargo, es similar a los descritos en otros países de África Subsahariana (20). Este bajo porcentaje de éxito terapéutico está influido, principalmente, por un alto porcentaje de abandonos (21,2%). Hay varios factores que tener en cuenta y que pueden ser causa de estos porcentajes. En primer lugar, pese a que estos pacientes no estaban infectados por una cepa de TB MDR, presentaban diferentes patrones de resistencia a otros fármacos de primera línea, hecho que puede haber condicionado un menor porcentaje de éxito terapéutico. De hecho, 4 de los pacientes presentaban resistencia fenotípica a RIF y 36 presentaban resistencia a INH. Pese a que no se observaron

diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con y sin resistencia a INH, una menor proporción de pacientes con este patrón de resistencia terminó con éxito el tratamiento. Probablemente, la falta de asociación entre resistencias a fármacos de primera línea y el éxito del tratamiento se deba a un bajo número de pacientes. Por otro lado, el régimen terapéutico recibido por estos pacientes también fue diferente; aunque la mayoría recibieron tratamiento de primera línea, aquellos pacientes que ya habían recibido tratamiento antituberculoso previo y en los que no se detectaba resistencia a RIF por Xpert MTB/RIF, recibieron un esquema de tratamiento basado en la categoría II, y en aquellos considerados como resistentes a RIF mediante el Xpert MTB/RIF se inició un esquema terapéutico con fármacos de segunda línea pese a que el antibiograma no detectó a presencia de TB MDR. Estos diferentes esquemas terapéuticos han podido influir tanto en el fracaso como en el abandono del tratamiento. Además, hay que tener en cuenta que muchos de los pacientes viven lejos del centro. De hecho, el mismo municipio de Cubal está compuesto por 4 comunas, algunas de ellas bastante alejadas del Hospital, lo que hace que seguro es una de las causas del alto porcentaje de abandonos.

Las variables que se relacionaron con la falta de éxito terapéutico fueron la persistencia de una baciloscopia positiva a los dos meses de tratamiento y la edad. Se ha observado que pacientes con presencia de cavidades en la radiografía de tórax, una alta carga bacilar al inicio del tratamiento y con afectación pulmonar bilateral presentan más frecuentemente una baciloscopia positiva a los dos meses de tratamiento (81-83). Las guías de la OMS de 2003 recomendaban la extensión de la fase intensiva de tratamiento en los casos con baciloscopia positiva al segundo mes de tratamiento (47), sin embargo, la relación entre la positividad de la baciloscopia al segundo mes y la ausencia de respuesta al tratamiento no está clara (84), por lo que la OMS dejó de recomendar la extensión de la fase intensiva en las guías de 2009 (85). Con respecto a la edad, observamos que los pacientes menores de 20 años tenían más probabilidad de acabar el tratamiento con éxito en comparación con personas de otro rango de edad, relación que ya ha sido descrita previamente en otros estudios (86).

Motivo de inicio de tratamiento en pacientes con TB MDR

Pese a las altas prevalencias de enfermedad tuberculosa causada por cepas MDR descritas en el primer artículo, todavía hoy por hoy el diagnóstico de esta enfermedad no puede realizarse en cualquier parte de Angola ni en muchos países de África Subsahariana, lo que provoca que el tratamiento se inicie en muchos casos de manera empírica. De hecho, 41,5% de los pacientes incluidos en nuestro estudio iniciaron un régimen para TB MDR sin confirmación microbiológica. Pese a los posibles problemas que pueden asociarse al inicio empírico del tratamiento de TB MDR, los potenciales beneficios como la prevención de la transmisión de la enfermedad, así como la reducción de la morbilidad, hacen que el tratamiento empírico se utilice de manera frecuente en países con alta carga de TB (87, 88). Sin embargo, es difícil establecer los grupos de pacientes en los que el riesgo de estar infectados por una cepa de TB MDR es alto. En 2009, la OMS recomendaba comenzar regímenes de TB MDR en pacientes que habían fracasado en tratamientos previos basándose exclusivamente en baciloscopia. Sin embargo, varios estudios han demostrado que, entre un tercio y dos tercios de baciloscopias positivas realizadas durante el seguimiento de pacientes en tratamiento, presentan cultivos negativos, hecho que es especialmente relevante en pacientes que reciben tratamientos con RIF durante todo el curso de la enfermedad (89). Los pacientes que son contactos de personas infectadas por una cepa de TB MDR constituyen otro de los grupos en los que parece claro el inicio de un esquema terapéutico con fármacos de segunda línea de manera empírica (90). Este último hecho ocurre de manera importante en los niños, en los que la confirmación microbiológica es especialmente complicada (91).

Efectos secundarios relacionados con el esquema de tratamiento para TB MDR

Otro de los objetivos específicos de la presente tesis fue el de describir los efectos secundarios relacionados con el tratamiento estandarizado de segunda línea, información que queda recogida en el segundo artículo en el que se incluyeron todos los pacientes en los que se inició un régimen de tratamiento para TB MDR, independientemente de si el diagnóstico era de certeza o de sospecha.

Un 82,9% de los pacientes tratados con un esquema de TB MDR presentó al menos un efecto adverso relacionado con la medicación, hecho que es común con el uso de fármacos de segunda línea y que depende principalmente de la composición del esquema terapéutico

y la duración de este. Existen además varias características clínicas que se han asociado a la aparición de efectos adversos, tales como la infección por el VIH y la historia previa de tratamiento antituberculoso (92-97). En nuestro estudio, tanto el haber recibido tratamiento previo como la duración del tratamiento se relacionaron con la aparición de efectos adversos.

La asociación entre la aparición de efectos adversos y el haber recibido tratamiento para TB previamente se ha descrito también en otros estudios (98). Es posible que los pacientes previamente tratados hubieran desarrollado algún efecto adverso no claramente objetivable durante los tratamientos anteriores y que, al recibir de nuevo medicación, ese efecto adverso se haya hecho más evidente. Esto está bien descrito con el uso de aminoglucósidos (99), ya que la ototoxicidad relacionada con este grupo de fármacos no es percibida por el paciente hasta que no existe un deterioro importante de la audición. Dado que muchos de los pacientes previamente tratados habían recibido tratamiento con Categoría II que incluía STR, es posible que existiera un grado de ototoxicidad tras terminar el tratamiento previo y que por ello presentaran más ototoxicidad que los pacientes que nunca habían sido tratados con aminoglucósidos. Por otro lado, no podemos garantizar que alguno de los efectos adversos estuviese presente al inicio del tratamiento ya que esta información no fue recogida de manera sistemática.

La duración del tratamiento fue la otra variable relacionada con el desarrollo de efectos secundarios, también previamente descrita en otros estudios (100) y una de las razones por la que son necesarios tratamientos más cortos para el manejo de la TB MDR. Sin embargo, pese a que durante los últimos años han aparecido regímenes acortados recomendados por la OMS, los fármacos que componen estos esquemas presentan todavía toxicidades importantes. Por lo tanto, no sólo es necesario acortar la duración de los tratamientos, sino incluir fármacos menos tóxicos.

El efecto adverso más frecuentemente observado en nuestro estudio fue la elevación de transaminasas que ocurrió en un 46,1% de los pacientes. Este porcentaje es más alto que el observado en otras series de pacientes tratados con un régimen para TB MDR (101, 102), sin embargo, la definición de hepatotoxicidad difiere entre los estudios publicados. En nuestro estudio la definición de hepatotoxicidad se basó en cualquier elevación de enzimas

hepáticas por encima de 1,5 los valores normales, a diferencia de 5 veces el límite superior de la normalidad utilizado en otros estudios (101, 102). Sólo 6 pacientes (2,7%) alcanzaron niveles de transaminasas 5 veces por encima de lo normal, y todos ellos volvieron a tener cifras normales de transaminasas en controles posteriores. Dentro de los fármacos utilizados en el esquema terapéutico de estos pacientes, tanto la INH como la etionamida se han relacionado con hepatotoxicidad (103).

Un 40,2% de los pacientes desarrollaron ototoxicidad subjetiva, que permaneció en un 56,8% de los mismos tras la finalización del tratamiento. Probablemente esta prevalencia esté infraestimada ya que tan sólo se monitorizaron síntomas y no se realizaron audiogramas de manera periódica a todos los pacientes. La toxicidad por aminoglucósidos afecta principalmente a las frecuencias auditivas altas, frecuencias no usadas en la conversación normal y que precisan de un audiograma para detectar su afectación (104). Existen varios factores que se han asociado a la ototoxicidad inducida por aminoglucósidos, como la coinfección por el VIH (105), el tipo de aminoglucósido (106, 107) y la dosis acumulada por Kg de peso (99, 108). En nuestro estudio se observó que tanto el tratamiento antituberculoso previo como el tiempo de tratamiento estaban relacionados con la aparición de ototoxicidad. Dado que los pacientes recibieron diferentes aminoglucósidos según la disponibilidad del PNLT, no hemos sido capaces de relacionar la ototoxicidad con un fármaco en concreto.

Otro de los efectos secundarios que observamos frecuentemente fue la afectación psiquiátrica, que se observó en 22,4% de los pacientes. Este efecto secundario ha sido relacionado con diferentes fármacos antituberculosos, como son la INH y el EMB (109), aunque parece que el agente farmacológico más frecuentemente implicado en el desarrollo de trastornos psiquiátricos es la cicloserina (110, 111). Pese a que estudios previos han publicado la posibilidad de manejar los efectos adversos psiquiátricos sin necesidad de modificar el régimen de tratamiento, en nuestro caso, la cicloserina tuvo que retirarse en 39 pacientes. De hecho, la sintomatología psiquiátrica fue la causa más frecuente de retirada de fármacos.

La aparición de polineuropatía periférica se observó en 31,5% de los pacientes. Este efecto adverso se relaciona con varios de los fármacos antituberculosos, como son la INH, STR,

etionamida, cicloserina y fluoroquinolonas (112-116). Tanto la polineuropatía periférica como los problemas psiquiátricos fueron más frecuentes en nuestro estudio que en otros estudios publicados y similares a los descritos en cohortes de pacientes con coinfección por el VIH (117, 118). Una de las razones que podrían explicar este elevado porcentaje es que durante el estudio no se entregó piridoxina de manera gratuita. Pese a que la recomendación de tomarla se dio a todos los pacientes, esta tenía que comprarse de manera particular, por lo que no podemos asegurar su toma de manera generalizada. Por otro lado, es posible que otros estudios que describen efectos secundarios relacionados con el tratamiento de la TB MDR no hayan preguntado de manera sistemática por la aparición de ciertos efectos secundarios, lo que habría llevado a un infra diagnóstico de los mismos.

Éxito terapéutico en pacientes con TB MDR

De forma similar a los datos recogidos en el último informe mundial de la OMS de 2018 y de estudios recientemente publicados (20, 119), un 53,8% de los pacientes incluidos en el estudio terminaron el tratamiento con éxito. Sin embargo, un alto porcentaje de pacientes abandonó el tratamiento comparado con otras series de pacientes tratados con regímenes de TB MDR (95). Hay varios factores que pueden explicar esta relación, como son la distancia de la que provenían varios de los pacientes de nuestro estudio o el alto porcentaje de efectos adversos que ya han sido descritos como una causa frecuente de abandonos (120). En contra, el número de pacientes con un fracaso farmacológico fue bajo, similar al descrito en otros países africanos (95). Hay que tener en cuenta que los fármacos de segunda línea para el tratamiento de la TB MDR han sido recientemente introducidos en el país, por lo que la prevalencia de resistencias a estos fármacos es todavía baja y por tanto el fracaso a los mismos poco frecuente. Por otro lado, el hecho de que el seguimiento se realizara con baciloscopia y no con cultivos ha podido infraestimar el porcentaje de fracasos.

La incidencia de efectos adversos se asoció con la falta de éxito del tratamiento. Esta relación ha sido previamente descrita, de hecho, se ha observado en otros estudios que la causa más frecuente de abandono de tratamiento es el desarrollo de efectos adversos (120). Es fácil de entender que, ya sea el paciente o el médico, decidan parar el tratamiento ante la aparición de efectos adversos que no se controlan con medicación. Por este motivo, es

imprescindible el control precoz de efectos adversos. Por otro lado, tal y como se ha comentado previamente, existe una clara necesidad en definir esquemas terapéuticos más cortos y compuestos con fármacos menos tóxicos. En los últimos años han aparecido esquemas terapéuticos de 9 meses de duración que se asocian a porcentajes de éxito de tratamiento mayores al 80% en determinadas condiciones (42, 43). Sin embargo, datos posteriores han observado altos porcentajes de resistencias a algunos de los fármacos utilizados en estos regímenes, y han aparecido dudas sobre el uso generalizado de los mismos para el tratamiento de la TB MDR (121, 122). De hecho, si analizamos las resistencias observadas en los cultivos de esputo de los pacientes incluidos en nuestro estudio, observamos que en 20 de los 91 (21,7%) pacientes que presentaban una cepa de TB MDR se observaban también resistencias a alguno de los fármacos incluidos en los regímenes cortos recomendados por la OMS. Además, el uso de estos regímenes requiere el acceso a la realización de pruebas de susceptibilidad a antibióticos, lo que no es posible en países como Angola. Por lo tanto, pese a que los últimos regímenes acortados y propuestos por la OMS permitirían mejorar los resultados de los pacientes con una TB MDR, deben ser aplicados junto con mejoras en los laboratorios y formación en el personal que administra dichos regímenes.

Además de las recomendaciones de tratamientos acortados, las nuevas guías de la OMS para el tratamiento de la TB MDR proponen y aconsejan utilizar regímenes libre de fármacos inyectables en pacientes con TB MDR (123, 124) debida a la alta proporción de efectos secundarios relacionados con los fármacos inyectables. Sin embargo y como ya se ha mencionado previamente, el acceso a ciertos fármacos como la bedaquilina o el linezolid no es fácil en ciertos países como es el caso de Angola.

8. LIMITACIONES

Una de las limitaciones de los trabajos que componen esta tesis es que los criterios de curación y fracaso fueron basados en resultados de baciloscopia en lugar de en cultivos como recomienda la OMS. Como se ha mencionado en la discusión, este hecho ha podido infraestimar el porcentaje de fracasos en los pacientes tratados. Sin embargo, esta limitación refleja la realidad del diagnóstico y manejo de la TB en muchas zonas con escasos recursos, donde la realización de cultivos de micobacterias es difícil, o, imposible en el caso de Angola.

En el primer trabajo, el Xpert MTB/RIF se realizó tan sólo en pacientes con alto riesgo de TB MDR, es decir, en aquellos pacientes que habían recibido tratamiento previo y en los que tenían un esputo con baciloscopia positiva tras dos meses de tratamiento. Pese a que esta estrategia puede pasar por alto varios diagnósticos de TB MDR o retrasar el diagnóstico en algunos pacientes tal y como se ha discutido previamente, nos permitió abarcar un mayor número de pacientes con los escasos recursos de los que disponíamos, centrándonos en aquellos con un mayor riesgo de TB MDR.

En ambos estudios tuvimos varios resultados de cultivos negativos o contaminados. Este es un problema frecuente cuando las muestras tienen que ser enviadas a lugares que se encuentran a gran distancia. Sin embargo, es un problema a tener en cuenta en futuros estudios para intentar mejorar las condiciones de viaje y transporte.

Por otro lado, en el primer estudio sólo se incluyeron pacientes mayores de 16 años y con baciloscopia positiva, por lo que los resultados pueden no ser representativos de la población general. Además, el hecho de que el Hospital Nossa Senhora da Paz sea un centro de referencia en TB y que en el momento de la realización de este estudio fuera, junto con una clínica en Luanda, uno de los dos únicos centros que diera tratamiento para TB MDR, puede haber provocado un efecto llamada, habiendo hecho que centros de diagnóstico de TB hayan derivado pacientes con fracaso previo, y por tanto con mayor probabilidad de estar infectados por cepas de TB MDR.

En el segundo estudio, los efectos secundarios fueron auto-referenciados, sin realizarse en muchos casos una prueba confirmatoria, por lo que es posible que el porcentaje de efectos secundarios haya sido infravalorado. Por otro lado, otros efectos secundarios relacionados con fármacos utilizados en nuestro estudio no fueron ni siquiera valorados por falta de capacidad, como es el caso del hipotiroidismo.

En el segundo estudio tampoco recogimos datos sobre algunas enfermedades de base que podrían estar en relación con el desarrollo de algunos de los efectos secundarios, como es el caso de las hepatitis o el abuso de alcohol entre otros.

9. CONCLUSIONES

-La prevalencia de la Tuberculosis Multirresistente en Cubal, una zona rural de Angola es muy alta, por encima de la estimada por la OMS.

-La Tuberculosis Multirresistente en Cubal se asocia a haber recibido tratamiento antituberculoso previo, al sexo masculino, al engrosamiento pleural y a la duración de enfermedad.

-Los pacientes tratados con un régimen largo y estandarizado para la TB MDR presentan frecuentemente efectos adversos relacionados con el tratamiento, siendo los más comunes la hepatotoxicidad, la nefrotoxicidad y la ototoxicidad.

-El desarrollo de efectos adversos se asocia a haber recibido tratamiento tuberculoso previo y a la duración del tratamiento.

-La falta de éxito de tratamiento se asocia al desarrollo de efectos adversos.

10. LÍNEAS DE TRABAJO FUTURAS Error! Bookmark not defined.

Los estudios que componen esta tesis muestran un mapa de la TB MDR en Cubal, habiéndose objetivado que esta enfermedad supone un problema de salud pública importantísimo que hay que tener en cuenta. Pese a que hemos objetivado que la prevalencia de TB MDR en el área de Cubal es más alta que la estimada por la OMS para Angola, no podemos asegurar que estos datos reflejen la situación real del país, por lo que un estudio de prevalencia de TB MDR a nivel nacional sería necesario. En este sentido, el PNLT junto con la OMS-Angola han iniciado los trámites para la realización de este estudio nacional, en el que nuestro grupo de investigación va a colaborar. Por otro lado, estudios de prevalencia en determinados grupos de riesgo, como cárceles, serían también necesarios.

Por otro lado, hemos observado que el Xpert MTB/RIF es una herramienta útil en el diagnóstico de la TB y de la resistencia a la RIF, pero esto no es suficiente para el manejo de pacientes con TB MDR, ya que conocer la sensibilidad a otros fármacos de primera y segunda línea es necesario para poder construir esquemas terapéuticos dirigidos. En este sentido, estudios para evaluar nuevos métodos diagnósticos de resistencias a antibióticos y su aplicación en una zona rural serían necesarios. Por otro lado, el diagnóstico es especialmente difícil en pacientes coinfectados por el VIH y en niños, por lo que estudios enfocados en estas poblaciones son muy necesarios. En este sentido, se está llevando a cabo un estudio sobre alternativas diagnósticas en pediatría, utilizando muestras de aspirado gástrico y aspirado nasofaríngeo. Los resultados de este estudio están pendientes de publicación.

Pensamos que la TB MDR diagnosticada es sin duda la punta del iceberg. Los pacientes que se diagnostican son las personas que llegan con sintomatología a los centros de atención médica, pero existe una transmisión a nivel de la comunidad muy importante. Estudios para evaluar nuevas estrategias para el diagnóstico precoz de TB a nivel comunitario son también necesarios si queremos disminuir la morbi-mortalidad relacionada con esta enfermedad. Del mismo modo, la optimización de los estudios de contactos y estudios para evaluar tratamientos de infección tuberculosa latente en contactos de personas infectadas por TB MDR son también importantes.

Con respecto a los resultados del tratamiento, observamos altos porcentajes de efectos adversos, así como de pérdidas en el seguimiento, probablemente relacionadas a los efectos adversos, así como a otras situaciones como distancia al centro, falta de recursos, poca percepción de enfermedad una vez que los síntomas desaparecen, etc. Estudios para detectar factores que aumenten la adherencia al tratamiento son fundamentales. Del mismo modo, estudios que evalúen regímenes más cortos y con fármacos menos tóxicos son también necesarios.

Por último, son necesarios estudios de farmacocinética y farmacodinámica de fármacos antituberculosos. Cada vez tenemos más información de que probablemente las dosis de los fármacos utilizados no son las correctas, y que estas tendrían que adaptarse según el paciente, la cepa, la localización de la enfermedad, etc. Sin embargo, hasta que no dispongamos de medios de monitorizaciones de fármacos fáciles de realizar e interpretar, estas cuestiones no podrán ser enfocadas en las poblaciones más afectadas por la enfermedad.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Gutierrez MC, Brisse S, Brosch R, Fabre M, Omaïs B, Marmiesse M, et al. Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog.* 2005;1(1):e5.
2. Roberts CA. Old World tuberculosis: Evidence from human remains with a review of current research and future prospects. *Tuberculosis (Edinb).* 2015;95 Suppl 1:S117-21.
3. Daniel TM. The origins and precolonial epidemiology of tuberculosis in the Americas: can we figure them out? *Int J Tuberc Lung Dis.* 2000;4(5):395-400.
4. Hippocrates. (460-370 BCE). Book 1 - Of the epidemics. In: Adams F (Ed.). *The genuine works of Hippocrates.* London: The Sydenham Society 1849.
5. Daniel TM. The history of tuberculosis. *Respir Med.* 2006;100(11):1862-70.
6. Gurunluoglu R, Gurunluoglu A. Paul of Aegina: landmark in surgical progress. *World J Surg.* 2003;27(1):18-25.
7. Saeed BW. Malignant tuberculosis. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2006;18(3):1-2.
8. Sabbatani S. [Historical insights into tuberculosis. Girolamo Fracastoro's intuition on the transmission of tuberculosis and his opponents. History of an idea]. *Infez Med.* 2004;12(4):284-91.
9. Gradmann C. Robert Koch and the pressures of scientific research: tuberculosis and tuberculin. *Med Hist.* 2001;45(1):1-32.
10. JELLINEK K. Streptomycin in the treatment of extrapulmonary tuberculosis; early results. *N Engl J Med.* 1949;240(17):680-3.
11. Streptomycin Treatment of Pulmonary Tuberculosis. A Medical Research Council Investigation. *Br Med J* . 1948 Oct 30; 2(4582): 769–782. PMID: 18890300. PMID: PMC2091872.
12. TREATMENT of pulmonary tuberculosis with streptomycin and para-aminosalicylic acid; a Medical Research Council investigation. *Br Med J.* 1950;2(4688):1073-85.
13. Daniel TM. Rifampin--a major new chemotherapeutic agent for the treatment of tuberculosis. *N Engl J Med.* 1969;280(11):615-6.
14. MIDDLEBROOK G, COHN ML. Some observations on the pathogenicity of isoniazid-resistant variants of tubercle bacilli. *Science.* 1953;118(3063):297-9.
15. Manten A, Van Wijngaarden LJ. Development of drug resistance to rifampicin. *Chemotherapy.* 1969;14(2):93-100.
16. Steiner M, Chaves AD, Lyons HA, Steiner P, Portugaleza C. Primary drug-resistant tuberculosis. Report of an outbreak. *N Engl J Med.* 1970;283(25):1353-8.
17. WHO. Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis: WHO/TB/94.178. Geneva: World Health Organization, 1994.
18. Gandhi NR, Moll A, Sturm AW, Pawinski R, Govender T, Lalloo U, et al. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. *Lancet.* 2006;368(9547):1575-80.
19. Extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB): recommendations for prevention and control. *Wkly Epidemiol Rec.* 2006;81(45):430-2.
20. WHO. Global tuberculosis report 2018.
21. WHO. Tuberculosis country profile of Angola. 2016.
22. WHO. Implementing the end TB strategy: the essentials. 2015.
23. WHO. Global tuberculosis report 2016.:
24. Alcaide F, Esteban J, González-Martin J, Palacios JJ. Methods for determining the antimicrobial susceptibility of mycobacteria. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2017;35(8):529-35.
25. Zignol M, Dean AS, Alikhanova N, Andres S, Cabibbe AM, Cirillo DM, et al. Population-based resistance of *Mycobacterium tuberculosis* isolates to pyrazinamide and fluoroquinolones: results from a multicountry surveillance project. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(10):1185-92.

26. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N Engl J Med.* 2010;363(11):1005-15.
27. WHO. WHO meeting report of a technical expert consultation: non inferiority analysis of Xpert MTB/RIF ultra compared to Xpert MTB/RIF.
28. Dorman SE, Schumacher SG, Alland D, Nabeta P, Armstrong DT, King B, et al. Xpert MTB/RIF Ultra for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin resistance: a prospective multicentre diagnostic accuracy study. *Lancet Infect Dis.* 2018;18(1):76-84.
29. WHO. (2016c) The Use of Molecular Line Probe Assays for the Detection of Resistance to Isoniazid and Rifampicin: Policy Guidance. Geneva: WHO.
30. WHO. (2016d) The Use of Molecular Line Probe Assays for the Detection of Resistance to Second-Line Anti-Tuberculosis Drugs: Policy Guidance. Geneva: WHO.
31. Vilchèze C, Wang F, Arai M, Hazbón MH, Colangeli R, Kremer L, et al. Transfer of a point mutation in *Mycobacterium tuberculosis* *inhA* resolves the target of isoniazid. *Nat Med.* 2006;12(9):1027-9.
32. Morlock GP, Metchock B, Sikes D, Crawford JT, Cooksey RC. *ethA*, *inhA*, and *katG* loci of ethionamide-resistant clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(12):3799-805.
33. Machado D, Perdigão J, Ramos J, Couto I, Portugal I, Ritter C, et al. High-level resistance to isoniazid and ethionamide in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* of the Lisboa family is associated with *inhA* double mutations. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(8):1728-32.
34. Kambli P, Ajbani K, Sadani M, Nikam C, Shetty A, Udwadia Z, et al. Defining multidrug-resistant tuberculosis: correlating GenoType MTBDRplus assay results with minimum inhibitory concentrations. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015;82(1):49-53.
35. Böttger EC. The ins and outs of *Mycobacterium tuberculosis* drug susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(8):1128-34.
36. Rieder HL, Van Deun A. Rationale for high-dose isoniazid in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2017;21(1):123-4.
37. Schön T, Miotto P, Köser CU, Viveiros M, Böttger E, Cambau E. *Mycobacterium tuberculosis* drug-resistance testing: challenges, recent developments and perspectives. *Clin Microbiol Infect.* 2017;23(3):154-60.
38. Heyckendorf J, Andres S, Köser CU, Olaru ID, Schön T, Sturegård E, et al. What Is Resistance? Impact of Phenotypic versus Molecular Drug Resistance Testing on Therapy for Multi- and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62(2).
39. Katiyar SK, Bihari S, Prakash S, Mamtani M, Kulkarni H. A randomised controlled trial of high-dose isoniazid adjuvant therapy for multidrug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008;12(2):139-45.
40. Kim SJ. Drug-susceptibility testing in tuberculosis: methods and reliability of results. *Eur Respir J.* 2005;25(3):564-9.
41. Zuur MA, Pasipanodya JG, van Soolingen D, van der Werf TS, Gumbo T, Alffenaar JC. Intermediate Susceptibility Dose-Dependent Breakpoints For High-Dose Rifampin, Isoniazid, and Pyrazinamide Treatment in Multidrug-Resistant Tuberculosis Programs. *Clin Infect Dis.* 2018;67(11):1743-9.
42. Van Deun A, Maug AK, Salim MA, 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):684-92.
43. Piubello A, Harouna SH, Souleymane MB, Boukary I, Morou S, Daouda M, et al. High cure rate with standardised short-course multidrug-resistant tuberculosis treatment in Niger: no relapses. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2014;18(10):1188-94.

44. Kuaban C, Noeske J, Rieder HL, Ait-Khaled N, Abena Foe JL, Trébuçq A. High effectiveness of a 12-month regimen for MDR-TB patients in Cameroon. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2015;19(5):517-24.
45. WHO. WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis - 2016 Update.
46. Nunn AJ, Phillips PPJ, Meredith SK, Chiang CY, Conradie F, Dalai D, et al. A Trial of a Shorter Regimen for Rifampin-Resistant Tuberculosis. *N Engl J Med.* 2019;380(13):1201-13.
47. WHO. Treatment of tuberculosis: guidelines for national programmes. Geneva: World Health Organization; 2003. WHO Publication No.WHO/CDS/TB/2003.313.
48. WHO. Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB): 2010 global report on surveillance and response. World Health Organisation: Geneva, Switzerland.
49. Eshetie S, Gizachew M, Dagne M, Kumera G, Woldie H, Ambaw F, et al. Multidrug resistant tuberculosis in Ethiopian settings and its association with previous history of anti-tuberculosis treatment: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 2017;17(1):219.
50. Samo Gudo P, Cuna Z, Coelho E, Maungate S, Borroni E, Miotto P, et al. Is multidrug-resistant tuberculosis on the rise in Mozambique? Results of a national drug resistance survey. *Eur Respir J.* 2011;38(1):222-4.
51. Musa BM, Adamu AL, Galadanci NA, Zubayr B, Odoh CN, Aliyu MH. Trends in prevalence of multi drug resistant tuberculosis in sub-Saharan Africa: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2017;12(9):e0185105.
52. Agadjanian V, Prata N. Civil war and child health: regional and ethnic dimensions of child immunization and malnutrition in Angola. *Soc Sci Med.* 2003;56(12):2515-27.
53. WHO. Guidelines for treatment of tuberculosis, fourth edition. Geneva: World Health Organization; 2010.
54. Espinal MA, Kim SJ, Suarez PG, Kam KM, Khomenko AG, Migliori GB, et al. Standard short-course chemotherapy for drug-resistant tuberculosis: treatment outcomes in 6 countries. *JAMA.* 2000;283(19):2537-45.
55. Quy HT, Lan NT, Borgdorff MW, Grosset J, Linh PD, Tung LB, et al. Drug resistance among failure and relapse cases of tuberculosis: is the standard re-treatment regimen adequate? *Int J Tuberc Lung Dis.* 2003;7(7):631-6.
56. Saravia JC, Appleton SC, Rich ML, Sarria t, Bayona J, Becerra MC. Retreatment management strategies when first-line tuberculosis therapy fails. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2005;9(4):421-9.
57. WHO. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system: policy statement.: World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2011. ; 2011.
58. WHO. The use of the XPERT MTB / RIF assay for the detection of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults and children. . 2013.
59. Boehme CC, Nicol MP, Nabeta P, Michael JS, Gotuzzo E, Tahirli R, et al. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study. *Lancet.* 2011;377(9776):1495-505.
60. Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme CC, Dendukuri N. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014(1):CD009593.
61. Ardizzoni E, Fajardo E, Saranchuk P, Casenghi M, Page AL, Varaine F, et al. Implementing the Xpert® MTB/RIF Diagnostic Test for Tuberculosis and Rifampicin Resistance: Outcomes and Lessons Learned in 18 Countries. *PLoS One.* 2015;10(12):e0144656.
62. Cox HS, Mbhele S, Mohess N, Whitelaw A, Muller O, Zemanay W, et al. Impact of Xpert MTB/RIF for TB diagnosis in a primary care clinic with high TB and HIV prevalence in South Africa: a pragmatic randomised trial. *PLoS Med.* 2014;11(11):e1001760.

63. Rabna P, Ramos J, Ponce G, Sanca L, Mané M, Armada A, et al. Direct Detection by the Xpert MTB/RIF Assay and Characterization of Multi and Poly Drug-Resistant Tuberculosis in Guinea-Bissau, West Africa. *PLoS One*. 2015;10(5):e0127536.
64. Cazabon D, Suresh A, Oghor C, Qin ZZ, Kik SV, Denkinger CM, et al. Implementation of Xpert MTB/RIF in 22 high tuberculosis burden countries: are we making progress? *Eur Respir J*. 2017;50(2).
65. Martin LJ, Roper MH, Grandjean L, Gilman RH, Coronel J, Caviedes L, et al. Rationing tests for drug-resistant tuberculosis - who are we prepared to miss? *BMC Med*. 2016;14:30.
66. Telenti A, Imboden P, Marchesi F, Lowrie D, Cole S, Colston MJ, et al. Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. *Lancet*. 1993;341(8846):647-50.
67. Zetola NM, Shin SS, Tumedi KA, Moeti K, Ncube R, Nicol M, et al. Mixed *Mycobacterium tuberculosis* complex infections and false-negative results for rifampin resistance by GeneXpert MTB/RIF are associated with poor clinical outcomes. *J Clin Microbiol*. 2014;52(7):2422-9.
68. Mokaddas E, Ahmad S, Eldeen HS, Al-Mutairi N. Discordance between Xpert MTB/RIF assay and Bactec MGIT 960 Culture System for detection of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in a country with a low tuberculosis (TB) incidence. *J Clin Microbiol*. 2015;53(4):1351-4.
69. Rando-Segura A, Aznar ML, Moreno MM, Espasa M, Sulleiro E, Bocanegra C, et al. Drug Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* Complex in a Rural Setting, Angola. *Emerg Infect Dis*. 2018;24(3):569-72.
70. Theron G, Venter R, Smith L, Esmail A, Randall P, Sood V, et al. False positive Xpert MTB/RIF results in re-tested patients with previous tuberculosis: frequency, profile, and prospective clinical outcomes. *J Clin Microbiol*. 2018.
71. Friedrich SO, Rachow A, Saathoff E, Singh K, Mangu CD, Dawson R, et al. Assessment of the sensitivity and specificity of Xpert MTB/RIF assay as an early sputum biomarker of response to tuberculosis treatment. *Lancet Respir Med*. 2013;1(6):462-70.
72. Banda HT, Harries AD, Boeree MJ, Nyirenda TE, Banerjee A, Salaniponi FM. Viability of stored sputum specimens for smear microscopy and culture. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2000;4(3):272-4.
73. Faustini A, Hall AJ, Perucci CA. Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe: a systematic review. *Thorax*. 2006;61(2):158-63.
74. Mekonnen F, Tessema B, Moges F, Gelaw A, Eshetie S, Kumera G. Multidrug resistant tuberculosis: prevalence and risk factors in districts of metema and west armachiho, Northwest Ethiopia. *BMC Infect Dis*. 2015;15:461.
75. Chuchottaworn C, Thanachartwet V, Sangsayunh P, Than TZ, Sahassananda D, Surabotsophon M, et al. Risk Factors for Multidrug-Resistant Tuberculosis among Patients with Pulmonary Tuberculosis at the Central Chest Institute of Thailand. *PLoS One*. 2015;10(10):e0139986.
76. Goswami A, Chakraborty U, Mahapatra T, Mahapatra S, Mukherjee T, Das S, et al. Correlates of treatment outcomes and drug resistance among pulmonary tuberculosis patients attending tertiary care hospitals of Kolkata, India. *PLoS One*. 2014;9(10):e109563.
77. Bantubani N, Kabera G, Connolly C, Rustomjee R, Reddy T, Cohen T, et al. High rates of potentially infectious tuberculosis and multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) among hospital inpatients in KwaZulu Natal, South Africa indicate risk of nosocomial transmission. *PLoS One*. 2014;9(3):e90868.
78. Rockwood N, Abdullahi LH, Wilkinson RJ, Meintjes G. Risk Factors for Acquired Rifamycin and Isoniazid Resistance: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2015;10(9):e0139017.

79. Mesfin YM, Hailemariam D, Biadgilign S, Biadgilign S, Kibret KT. Association between HIV/AIDS and multi-drug resistance tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(1):e82235.
80. Suchindran S, Brouwer ES, Van Rie A. Is HIV infection a risk factor for multi-drug resistant tuberculosis? A systematic review. *PLoS One*. 2009;4(5):e5561.
81. Parikh R, Nataraj G, Kanade S, Khatri V, Mehta P. Time to sputum conversion in smear positive pulmonary TB patients on category I DOTS and factors delaying it. *J Assoc Physicians India*. 2012;60:22-6.
82. Caetano Mota P, Carvalho A, Valente I, Braga R, Duarte R. Predictors of delayed sputum smear and culture conversion among a Portuguese population with pulmonary tuberculosis. *Rev Port Pneumol*. 2012;18(2):72-9.
83. Lee J, Lee BJ, Yoon HI, Lee CT, Lee JH. Influence of previous tuberculosis treatment history on acid-fast bacilli smear and culture conversion. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2012;16(10):1344-8.
84. Horne DJ, Royce SE, Gooze L, Narita M, Hopewell PC, Nahid P, et al. Sputum monitoring during tuberculosis treatment for predicting outcome: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2010;10(6):387-94.
85. WHO Treatment of tuberculosis: guidelines for national programmes. 4th ed. WHO/HTM/TB/ 2009.420. . Geneva: World Health Organization;2010.
86. Báez-Saldaña R, Delgado-Sánchez G, García-García L, Cruz-Hervert LP, Montesinos-Castillo M, Ferreyra-Reyes L, et al. Isoniazid Mono-Resistant Tuberculosis: Impact on Treatment Outcome and Survival of Pulmonary Tuberculosis Patients in Southern Mexico 1995-2010. *PLoS One*. 2016;11(12):e0168955.
87. Theron G, Peter J, Dowdy D, Langley I, Squire SB, Dheda K. Do high rates of empirical treatment undermine the potential effect of new diagnostic tests for tuberculosis in high-burden settings? *Lancet Infect Dis*. 2014;14(6):527-32.
88. Lawn SD, Ayles H, Egwaga S, Williams B, Mukadi YD, Santos Filho ED, et al. Potential utility of empirical tuberculosis treatment for HIV-infected patients with advanced immunodeficiency in high TB-HIV burden settings. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011;15(3):287-95.
89. Kumar RS, Kumar AM, Claassens M, Banurekha VV, Sekar G, Venkatesan P, et al. Are we justified in treating for multidrug-resistant tuberculosis based on positive follow-up smear results? *Int J Tuberc Lung Dis*. 2014;18(4):449-53.
90. Parr JB, Rich ML, Keshavjee S, Franke MF, Mitnick CD, Bayona J, et al. Presumptive treatment of multidrug-resistant tuberculosis in household contacts. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2016;20(3):370-5.
91. Haraus EP, Garcia-Prats AJ, Law S, Schaaf HS, Kredo T, Seddon JA, et al. Treatment and outcomes in children with multidrug-resistant tuberculosis: A systematic review and individual patient data meta-analysis. *PLoS Med*. 2018;15(7):e1002591.
92. 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: A retrospective study. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(28):e7482.
93. Schnippel K, Firnhaber C, Berhanu R, Page-Shipp L, Sinanovic E. Adverse drug reactions during drug-resistant TB treatment in high HIV prevalence settings: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72(7):1871-9.
94. Nathanson E, Gupta R, Huamani P, Leimane V, Pasechnikov AD, Tupasi TE, et al. Adverse events in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: results from the DOTS-Plus initiative. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2004;8(11):1382-4.
95. Huerga H, Bastard M, Kamene M, Wanjala S, Arnold A, Oucho N, et al. Outcomes from the first multidrug-resistant tuberculosis programme in Kenya. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2017;21(3):314-9.
96. Bhushan B, Chander R, Kajal NC, Ranga V, Gupta A, Bharti H. Profile of adverse drug reactions in drug resistant tuberculosis from Punjab. *Indian J Tuberc*. 2014;61(4):318-24.

97. Carroll MW, Lee M, Cai Y, Hallahan CW, Shaw PA, Min JH, et al. Frequency of adverse reactions to first- and second-line anti-tuberculosis chemotherapy in a Korean cohort. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2012;16(7):961-6.
98. Wu S, Zhang Y, Sun F, Chen M, Zhou L, Wang N, et al. Adverse Events Associated With the Treatment of Multidrug-Resistant Tuberculosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Ther.* 2016;23(2):e521-30.
99. van Altena R, Dijkstra JA, van der Meer ME, Borjas Howard JF, Kosterink JG, van Soolingen D, et al. Reduced Chance of Hearing Loss Associated with Therapeutic Drug Monitoring of Aminoglycosides in the Treatment of Multidrug-Resistant Tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(3).
100. Modongo C, Pasipanodya JG, Zetola NM, Williams SM, Sirugo G, Gumbo T. Amikacin Concentrations Predictive of Ototoxicity in Multidrug-Resistant Tuberculosis Patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(10):6337-43.
101. Lee SS, Lee CM, Kim TH, Kim JJ, Lee JM, Kim HJ, et al. Frequency and risk factors of drug-induced liver injury during treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2016;20(6):800-5.
102. Keshavjee S, Gelmanova IY, Shin SS, Mishustin SP, Andreev YG, Atwood S, et al. Hepatotoxicity during treatment for multidrug-resistant tuberculosis: occurrence, management and outcome. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2012;16(5):596-603.
103. MOULDING TS, GOLDSTEIN S. Hepatotoxicity due to ethionamide. *Am Rev Respir Dis.* 1962;86:252-5.
104. Zheng Y, Schachern PA, Sone M, Papapella MM. Aminoglycoside ototoxicity. *Otol Neurotol.* 2001;22(2):266-8.
105. Hong H, Budhathoki C, Farley JE. Increased risk of aminoglycoside-induced hearing loss in MDR-TB patients with HIV coinfection. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2018;22(6):667-74.
106. Arnold A, Cooke GS, Kon OM, Dedicoat M, Lipman M, Loyse A, et al. Adverse Effects and Choice between the Injectable Agents Amikacin and Capreomycin in Multidrug-Resistant Tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(9).
107. Sagwa EL, Ruswa N, Mavhunga F, Rennie T, Leufkens HG, Mantel-Teeuwisse AK. Comparing amikacin and kanamycin-induced hearing loss in multidrug-resistant tuberculosis treatment under programmatic conditions in a Namibian retrospective cohort. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2015;16:36.
108. Aznar ML, Marras TK, Elshal AS, Mehrabi M, Brode SK. Safety and effectiveness of low-dose amikacin in nontuberculous mycobacterial pulmonary disease treated in Toronto, Canada. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2019;20(1):37.
109. Prasad R, Garg R, Verma SK. Isoniazid- and ethambutol-induced psychosis. *Ann Thorac Med.* 2008;3(4):149-51.
110. Walker IF, Khan AM, Khan NM, Ayub RM, Ghias KN, Walley JD. Depression among multidrug-resistant tuberculosis patients in Punjab, Pakistan: a large cross-sectional study. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2018;22(7):773-8.
111. Vega P, Sweetland A, Acha J, Castillo H, Guerra D, Smith Fawzi MC, et al. Psychiatric issues in the management of patients with multidrug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2004;8(6):749-59.
112. JONES WA, JONES GP. Peripheral neuropathy due to isoniazid; report of two cases. *Lancet.* 1953;1(6770):1073-4.
113. Goldman AL, Braman SS. Isoniazid: a review with emphasis on adverse effects. *Chest.* 1972;62(1):71-7.
114. Nair VS, LeBrun M, Kass I. Peripheral neuropathy associated with ethambutol. *Chest.* 1980;77(1):98-100.
115. Aoun M, Jacquy C, Debusscher L, Bron D, Lehert M, Noel P, et al. Peripheral neuropathy associated with fluoroquinolones. *Lancet.* 1992;340(8811):127.
116. POOLE GW, SCHNEEWEISS J. Peripheral neuropathy due to ethionamide. *Am Rev Respir Dis.* 1961;84:890-2.

117. Furin JJ, Mitnick CD, Shin SS, Bayona J, Becerra MC, Singler JM, et al. Occurrence of serious adverse effects in patients receiving community-based therapy for multidrug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2001;5(7):648-55.
118. Isaakidis P, Varghese B, Mansoor H, Cox HS, Ladomirska J, Saranchuk P, et al. Adverse events among HIV/MDR-TB co-infected patients receiving antiretroviral and second line anti-TB treatment in Mumbai, India. *PLoS One*. 2012;7(7):e40781.
119. Xu C, Pang Y, Li R, Ruan Y, Wang L, Chen M, et al. Clinical outcome of multidrug-resistant tuberculosis patients receiving standardized second-line treatment regimen in China. *J Infect*. 2018;76(4):348-53.
120. Tupasi TE, Garfin AM, Kurbatova EV, Mangan JM, Orillaza-Chi R, Naval LC, et al. Factors Associated with Loss to Follow-up during Treatment for Multidrug-Resistant Tuberculosis, the Philippines, 2012-2014. *Emerg Infect Dis*. 2016;22(3):491-502.
121. Sotgiu G, Tiberi S, Centis R, D'Ambrosio L, Fuentes Z, Zumla A, et al. Applicability of the shorter 'Bangladesh regimen' in high multidrug-resistant tuberculosis settings. *Int J Infect Dis*. 2017;56:190-3.
122. Dheda K, Cox H, Esmail A, Wasserman S, Chang KC, Lange C. Recent controversies about MDR and XDR-TB: Global implementation of the WHO shorter MDR-TB regimen and bedaquiline for all with MDR-TB? *Respirology*. 2018;23(1):36-45.
123. WHO. Rapid communication: key changes to treatment of multidrug- and rifampicin-resistant tuberculosis (MDR/RR-TB). Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 2018.
124. WHO. WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment. Geneva: World Health Organization; 2019. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Tuberculosis diagnosed in a rural setting in Angola. Accuracy of follow-up sputum smears to predict outcome

Teresa López¹, Milagros Moreno¹, Fernando Salvador², Adriano Zacarías¹, Rosa de Carvalho¹, Estevao Tomás¹, Gabriel Estevao¹, Arlette Nindia Eugenio¹, Joaquin Burgos², Elena Sulleiro³, Israel Molina², Vicenç Falcó²

¹Hospital Nossa Senhora da Paz de Cubal, Angola, ²Department of Infectious Diseases, ³Department of Microbiology, Vall d'Hebron Hospital, Autonomous University of Barcelona, Spain

Objective: To analyze treatment outcome and the accuracy of positive sputum smear at 2 months to predict treatment failure in a cohort of patients with tuberculosis (TB) in a rural setting in Angola.

Design: Observational study of patients with TB from January 2009 to August 2010 in Hospital Nossa Senhora da Paz in Angola. A multivariate analysis was performed to identify variables associated with treatment failure and death. Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and likelihood ratios to define the accuracy of a positive sputum smear at 2 months to predict treatment failure were calculated.

Results: One thousand four hundred and twenty-five patients were diagnosed with TB. Overall, 526 patients were cured from TB and 419 had treatment completed, so 945 (66.3%) patients achieved treatment success. The outcomes of the remaining patients were: 91 (6.4%) had treatment failure, 100 (7%) died, 49 (3.4%) interrupted treatment, and 240 (16.8%) were transferred out. Variables associated with a higher risk of treatment failure were previously treated patients (odds ratio, 2.36; 95% confidence interval, 1.32–4.2) and positive sputum smear at 2 months (odds ratio, 9.81; 95% confidence interval, 5.88–16.36). Among the group of 551 patients with sputum smear confirmed at diagnosis and specimens taken at 2 and 5 months, the positive predictive value (31%) and the positive likelihood ratio (3.21) of a positive sputum smear taken at 2 months to predict treatment failure were low.

Conclusions: Patients with positive sputum smear at 2 months have a higher risk of treatment failure. However, this by itself is a poor predictor of treatment failure.

Keywords: Tuberculosis, Predictors of treatment failure, Multidrug resistant tuberculosis, Tuberculosis in resource limited settings

Introduction

Tuberculosis (TB) remains a major cause of morbidity and mortality worldwide, especially in countries of sub-Saharan Africa.¹ In resource-limited settings, diagnosis of TB is still based on the presence of acid-fast bacilli identified in sputum smear. Treatment success in these settings is based on conversion of sputum smears to acid-fast bacilli-negative status.² A recent review suggested an inverse relationship between 2-month sputum culture conversion and relapse, nevertheless the positive predictive value to predict relapse was poor.³ In low-resource settings, where culture or other techniques for *Mycobacterium tuberculosis* detection are not performed, the control of patients with TB is based on the sputum smear examination. The ability of

a positive sputum smear at 2 months to predict treatment failure has been poorly assessed. A study from South Africa showed that patients with positive smears at 2–3 months were more likely to fail therapy than patients with negative smears.⁴

Hospital Nossa Senhora da Paz is a rural hospital in Cubal, Angola. Diagnosis of TB in this setting is based only on direct exam of clinical samples. The aim of this study is to analyze the clinical and microbiological outcome in a large cohort of patients with TB diagnosed in a rural setting in Angola and to evaluate the accuracy of positive sputum smear performed 2 months after having initiated therapy to predict treatment failure.

Patients and methods

Study population and setting

An observational study was conducted of all patients diagnosed with TB from 1 January 2009 to 31 August

Correspondence to: Vicenç Falcó, Department of Infectious Diseases, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, P^o Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain. Email: vfalcó@vhebron.net

Table 1 Demographic and clinical characteristics of patients with tuberculosis (TB) by age group

	≤3 years	4–14 years	>14 years
Number of patients	297	131	997
Males	163 (54.9%)	64 (48.9%)	613 (61.5%)
Females	134 (45.1%)	67 (51.1%)	384 (38.5%)
Positive HIV test	7/206 (3.4%)	6/112 (5.4%)	81/963 (8.4%)
Case definition for TB			
New cases	296 (99.7%)	122 (93.1%)	841 (84.4%)
Previously treated patients	—	4 (4.1%)	133 (13.3%)
Relapse	—	3 (2.3%)	38 (3.8%)
Failure	—	—	65 (6.5%)
Default	—	1 (0.8%)	30 (3%)
Transferred	1 (0.3%)	5 (3.9%)	23 (2.3%)
Pulmonary TB	287 (96.6%)	114 (87%)	966 (96.9%)
Diagnosis of TB			
Definite case of TB (positive sputum smear)	—	25 (19.1%)	880 (88.3%)
Clinical diagnosis (negative sputum smear)	—	13 (9.9%)	99 (9.9%)
Clinical diagnosis (sputum smear not done)	297 (100%)	93 (71%)	18 (1.8%)

calculated. All statistical analyses were performed with the SPSS statistical package (version 15.0).

In order to analyze the value of a positive sputum smear at 2 months to predict treatment failure, we calculated the sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predictive value. To ask whether or not sputum smear after the intensive phase of treatment predicts treatment failure, we have analyzed patients who meet all the following conditions: (1) initially diagnosed with a positive sputum smear; (2) had a sputum smear taken at the end of the intensive phase of treatment; and (3) had a sputum smear taken at 5 months of treatment. Sensitivity is defined as the proportion of TB patients with treatment failure with a positive sputum smear or culture at 2 months. Specificity refers to the proportion of patients not experiencing treatment failure with negative sputum at 2 months. PPV is the proportion of those with positive sputum and treatment failure. Negative predictive value is the proportion of those with negative sputum who did not experience treatment failure. These definitions have been used elsewhere.⁸ We also calculated positive and negative likelihood ratios (LRs). Low negative LR (<0.1) and high positive LR (>10) are considered useful for ruling out and ruling in decisions, respectively.⁹

Results

Study population

From 1 January 2009 to 31 August 2010, 1425 patients with a mean age of 24.1±17.1 years were

diagnosed with TB. There were 585 (41.1%) females and 840 (58.9%) males. HIV rapid test was performed in 1281 (89.9%) patients and it was positive in 94 (7.3%) of them. Table 1 shows the main demographic and clinical characteristics of patients by age group.

Evaluation of clinical outcome

Overall, 526 (36.9%) patients were cured of TB and 419 (29.4%) had treatment completed, so 945 (66.3%) patients achieved treatment success. The outcomes of the remaining patients were: 91 (6.4%) had treatment failure, 100 (7%) died during the course of treatment, 49 (3.4%) interrupted treatment for ≥ 2 months; and 240 (16.8%) were transferred out. The outcomes of patients by age group are shown in Table 2.

In Table 3, we present treatment success, death, and treatment failure rates for different groups of patients. In the multivariate analysis (Table 4), the variables independently associated with a higher risk of treatment failure were previously treated patients at presentation (OR, 2.36; 95% CI, 1.32–4.2) and positive sputum smear at 2 months (OR, 9.81; 95% CI, 5.88–16.36). Variables associated with a higher risk of death were female sex (OR, 1.76; 95% CI, 1.06–2.92), previously treated patients at presentation (OR, 3.35; 95% CI, 1.81–6.18), and HIV infection (OR, 6.93; 95% CI, 3.87–12.40).

Assessing treatment response in new and previously treated pulmonary TB patients with microbiologically confirmed diagnosis

A total of 905 patients had a positive sputum smear at diagnosis. At presentation 754 (83.3%) were new cases, 137 (15.1%) were previously treated patients, and the remaining 14 patients could not be classified.

At the end of the second month, a sputum sample was collected in 802 (88.6%) patients. In 225 of these 802 (28.1%) patients with a sputum sample taken at 2 months, it remained positive. Of patients with a positive smear at 2 months, a subsequent sample was collected at 3 months in 205 cases and it was still

Table 2 Outcome of patients diagnosed with tuberculosis (TB) by age group

	≤3 years	4–14 years	>14 years
Treatment success	212 (71.4%)	101 (77.1%)	632 (63.4%)
Cured	—	13 (9.9%)	513 (51.5%)
Treatment completed	212 (71.4%)	88 (67.2%)	119 (11.9%)
Treatment failure	—	2 (1.5%)	89 (8.9%)
Died	24 (8.1%)	6 (4.6%)	70 (7%)
Default	13 (4.4%)	4 (3.1%)	32 (3.2%)
Transfer out	48 (16.2%)	18 (13.7%)	174 (17.5%)

2010 in Hospital Nossa Senhora da Paz, a rural hospital located in the Benguela district, in Angola. The hospital is a reference center for the diagnosis and treatment of TB. Measures to support patient adherence include directly observed therapy and a regular supply of drugs in fixed-dose combinations and blister packs. Data from all patients with TB are routinely recorded in a written National Registry. These data were transferred to a computer with a codification system, in order to avoid identification of any patient, and were analyzed retrospectively. The study was approved by the direction board of the hospital Nossa Senhora da Paz.

Inclusion criteria

Cases of TB included both definite cases (defined by positive sputum smear) and those diagnosed clinically by a health worker (any person who presented with symptoms or signs suggestive of TB and who initiated TB treatment).⁵ A chest X-ray film was not required for diagnosis.

Data collection

The following variables were recorded: (1) socio-demographic data; (2) history of previous treatment; (3) site of TB disease (pulmonary and extrapulmonary); (4) HIV status; (5) date of initiation of TB treatment; (6) method of diagnosis of TB (clinically suspected and/or bacteriologically confirmed); (7) response to treatment; and (8) treatment outcome.

Laboratory diagnosis

Three samples of sputum were routinely collected from each patient in the early morning. Diagnosis of TB was based on the presence of acid-fast bacilli identified in sputum by Ziehl–Neelsen stain with smear microscopy. A quality control on the reading of sputum smears is routinely performed according to the guidelines of the National TB programme in Angola. During the study period, a sample of sputum specimens was sent to the reference laboratory of the National TB programme in Benguela for confirmation of the reads. Culture and drug susceptibility testing were not available. HIV testing was routinely performed in all patients using a rapid HIV test kit.⁶

Treatment regimens

The National TB programme in Angola was established according to 2003 WHO guidelines.² Treatment regimen for new cases consisted of an initial intensive phase lasting 2 months with isoniazid, rifampicin, pyrazinamide, and ethambutol and a continuation phase with isoniazid and ethambutol lasting for up to 6 months. The standard re-treatment regimen was: 2 months of streptomycin, rifampicin, isoniazid, ethambutol, and pirazinamide, four drugs (rifampicin, isoniazid, ethambutol, and pirazinamide) during the third month, and three drugs (rifampicin,

isoniazid, and ethambutol) in the continuation phase lasting for 5 additional months.

Monitoring the response to treatment

Response to treatment was assessed by sputum smear examination. Sputum smears were collected at diagnosis, at the end of the second month, during the fifth month, and in the last month of therapy. If the sputum smears remained positive at the end of the second month, smears were also checked at the end of the third month.

Definitions

WHO guidelines were used to define different patient categories as follows:^{5,7} new patients were those who had never had treatment for TB, or had taken anti-TB drugs for less than 1 month. Previously treated patients were those who had received 1 month or more of anti-TB drugs in the past. These patients were further classified by the outcome of their most recent course of treatment (relapse, failure, or default).

Definitions of treatment outcomes were: (1) cure: patients whose sputum smear was positive at diagnosis and negative in the last month of treatment and on at least one previous occasion; (2) treatment completed: patients who completed treatment but a negative sputum smear in the last month was not documented; (3) treatment success: sum of cured and completed treatment; (4) treatment failure: patients whose sputum smear remained positive at 5 months; (5) died: patients who died for any reason during the course of treatment; (6) default: patients whose treatment was interrupted for 2 consecutive months or more; and (7) transfer out: patients transferred to another unit and whose treatment outcome was unknown.

Statistical analysis

Data are presented as proportions and continuous variables are expressed as means and standard deviation. The Chi-square test was used to compare categorical variables, and the Student's *t*-test for continuous variables. Results were considered statistically significant if the two-tailed *P* value was <0.05. A multivariate analysis using a forward stepwise multiple regression model was carried out to identify variables independently associated with treatment failure and death. In this model, we included all variables that were statistically significant in the univariate analysis. Adjusted odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (CIs) were calculated.

For the group of patients with smear-positive pulmonary TB, the percentages of patients with positive and negative sputum smears at different time points and outcomes were compared between new cases and previously treated patients. Relative risks (RRs) and 95% CIs for persistence of positive sputum smear at 2 and 3 months and clinical outcome were

Table 3 Univariate analysis of treatment success, treatment failure, and death rates for patients with tuberculosis (TB)

	Treatment success (n=945)	P	Treatment failure (n=91)	P	Died (n=100)	P
Males	539/840 (64.2%)	0.040	63/840 (7.5%)	0.047	50/840 (6%)	0.073
Females	406/585 (69.4%)		28/585 (4.8%)		50/585 (8.5%)	
Age <14 years	313/428 (73.1%)	<0.0001	2/428 (0.5%)	<0.0001	30/428 (7.0%)	1
Age >14 years	632/997 (63.4%)		89/997 (8.9%)		70/927 (7.0%)	
New cases	863/1259 (68.5%)	<0.0001	64/1259 (5.1%)	<0.0001	75/1259 (6%)	<0.0001
Previously treated patients	63/137 (46%)		25/137 (18.2%)		21/116 (15.3%)	
Microbiologically confirmed diagnosis (definite cases)	577/905 (63.8%)	0.004	88/905 (9.7%)	<0.0001	59/905 (6.5%)	0.334
Clinical diagnosis	368/520 (70.8%)		3/520 (0.6%)		41/520 (7.9%)	
Positive HIV test	44/94 (46.8%)	<0.0001	7/94 (7.4%)	0.834	21/94 (22.3%)	<0.0001
Negative HIV test	817/1187 (68.8%)		83/1187 (7.0%)		50/1187 (4.2%)	
Positive sputum smear at 2 months	125/229 (54.6%)	<0.0001	64/229 (27.9%)	<0.0001	7/229 (3.1%)	0.310
Negative sputum smear at 2 months	511/667 (76.6%)		24/667 (3.6%)		13/667 (1.9%)	
Positive sputum smear at 3 months	39/106 (36.8%)	<0.0001	54/106 (50.9%)	<0.0001	1/106 (0.9%)	1
Negative sputum smear at 3 months	85/102 (83.3%)		3/102 (2.9%)		1/102 (1.0%)	

positive in 103 (50.2%) cases. At the end of the fifth month, a sputum sample could be collected in 559 cases and 68 (12.2%) of them had a positive sputum smear.

Table 5 shows the proportion of patients with positive sputum smear at 2 and 3 months and the outcome in new cases and previously treated patients. At the second month, previously treated patients had significantly higher risk of having a positive sputum smear than new cases (RR, 1.92; 95% CI, 1.26–2.94). At the third month, previously treated patients with a positive sputum smear at 2 months had also a significantly higher risk of having a positive sputum smear than new cases (RR, 3.37; 95% CI, 1.49–7.64). The risks of treatment failure (RR, 2.53; 95% CI, 1.52–4.21) and death (RR, 3.71; 95% CI, 2.09–6.61) were significantly higher in previously treated patients.

Accuracy of a positive sputum smear at 2 months to predict treatment failure

Table 6 shows the accuracy of a positive sputum smear at 2 months to predict treatment failure. This analysis has been made in the group of 551 patients initially diagnosed with a positive sputum smear and

who had sputum samples collected at 2 and 5 months. Sensitivity to predict treatment failure was 74% when the sputum remained positive at 2 months. However, both the PPV (31%) and the positive LR (3.21) were low.

Discussion

In our cohort of patients with TB in a rural setting in Angola, the overall rate of treatment success was 66.3%. However, it should be taken into account that 16.8% of patients were transferred out which explains partly this low rate of treatment success. If we discard these patients, the rate of treatment success rises to 80%. Primary resistance to antituberculous drugs, which is unknown in this setting, may contribute to our understanding of this rate of treatment success.

We have also observed that patients in whom the sputum smears remain positive at 2 months have a higher risk of treatment failure. This risk is even higher if the sputum is positive at 3 months. In our study, we have used the WHO definitions for TB outcomes in which treatment failure is defined as positive sputum smear at the fifth month or later during TB treatment.⁵ These results are similar to

Table 4 Multivariate analysis of variables associated with treatment failure and death

	Odds ratio (95% confidence interval)	P
Variables associated with treatment failure		
Previously treated patients at presentation	2.36 (1.32–4.2)	0.004
Positive sputum smear at 2 months	9.81 (5.88–16.36)	<0.0001
Variables associated with death		
Female sex	1.76 (1.06–2.92)	0.029
Previously treated patients at presentation	3.35 (1.81–6.18)	<0.0001
HIV infection	6.93 (3.87–12.40)	<0.0001

Table 5 Microbiological and clinical outcome of patients with positive sputum smear tuberculosis (TB)

	Previously treated patients (n=137)	New cases (n=754)	P
Positive sputum smear at 2 months	43/105 (41.0%)	182/686 (26.5%)	0.003
Positive sputum smear at 3 months	26/35 (74.3%)	77/167 (46.1%)	0.003
Treatment outcomes			
Treatment success	63/137 (46.0%)	508/754 (67.4%)	<0.0001
Treatment failure	25/137 (18.2%)	61/754 (8.1%)	0.001
Died	21/137 (15.3%)	35/754 (4.6%)	<0.0001
Default	6/137 (4.4%)	21/754 (2.8%)	0.28
Transferred out	22/137 (16.1%)	129/754 (17.1%)	0.901

those reported in previous studies. In South Africa, an analysis of four cohorts that included 562 adults with culture positive pulmonary TB found that, although patients with positive smears at 2–3 months had a 4.5 times higher risk to fail therapy than patients with negative smears, PPV for treatment failure was only 12.5%.⁴ In another study among patients with MDR-TB, outcomes were significantly worse for patients with positive sputum culture within 2 months after starting second-line therapy.¹⁰

Despite the higher risk of treatment failure, the accuracy of a positive sputum smear at 2 months to predict treatment failure is only modest. Although we have found a sensitivity and specificity of 74 and 77%, respectively, the PPV and the positive LR to predict treatment failure are too low to rely on this parameter to predict treatment failure. Our observation is in accordance with WHO guidelines which state that smear status at the end of the intensive phase is a poor predictor of relapse and treatment failure.¹¹ In a meta-analysis that included controlled trials, cohort and case-control studies of previously untreated patients with pulmonary TB, the pooled sensitivity for the 2-month smear to predict failure was 57% with a poor positive predictive value.⁸ Nevertheless, the authors of this meta-analysis recognize that the studies analyzed were heterogeneous, particularly concerning the type of sputum specimen (smear or culture), month of specimen examination, and outcomes, so the results of this meta-analysis should be taken with caution.

Although a positive sputum smear at the end of the intensive phase may suggest that the patient may have drug-resistant TB, it also may indicate other situations such as poor adherence, slow resolution because of extensive cavitations or even non-viable bacteria that remain visible by microscopy.

The risk of failure is even higher if the sputum remains positive at 3 months. A small retrospective study found that only 21 of 35 (60%) patients whose sputum was still positive at the end of 3 months of treatment were ultimately cured.¹²

Although patients with a positive sputum smear at 2 months had a significantly lower chance of cure from TB, they do not seem to have a higher risk of death. In our study variables independently associated with death were female sex, HIV infection, and previously treated patients at presentation. Different studies have also shown the delay in diagnosis of TB and the higher mortality that occur in women, probably because of difficulties in access to care.^{13–15}

In our study, previously treated patients had a significantly higher percentage of positive sputum smears at 2 and 3 months than new cases. They also had a significant higher risk of treatment failure and death. Previously treated patients are difficult to re-treat and represent a serious threat to TB control worldwide because of their higher rate of drug resistance.^{16–22} The high percentage of patients with treatment failure, especially in the cohort of previously treated patients, indicates that the prevalence of drug resistance should be high in this setting.

Table 6 Accuracy of a positive sputum smear at 2 months to predict treatment failure*

	Treatment failure	
	YES (positive sputum smear at 5 months)	NO (negative sputum smear at 5 months)
Positive sputum smear at 2 months	50	111
Negative sputum smear at 2 months	17	373
Accuracy of a positive sputum smear at 2 months to predict treatment failure		
Sensitivity	74%	
Specificity	77%	
Positive predictive value	31%	
Negative predictive value	96%	
Positive likelihood ratio	3.21	
Negative likelihood ratio	0.34	

Note: *The analysis has been made in the group of 551 patients initially diagnosed with a positive sputum smear and who have sputum samples collected at 2 and 5 months.

We are aware that our study has several limitations, mainly because it has been performed in a resource-limited setting. The most important limitations that should be acknowledged include the lack of culture confirmation of diagnoses or treatment outcomes and the lack of drug resistance testing. These limitations reflect the reality of TB diagnosis and management not only in this area of Angola but also in many other poor resource settings. Another aspect that should be taken into account is that nearly 17% of patients were transferred out so their final outcome could not be evaluated. Finally, because an active follow-up after the end of the treatment was not systematically performed, our study cannot tell if sputum smears taken at 2 months have any predictive value for prediction of relapse after treatment was completed. For this reason, the objective of our study was restricted to analyze the predictive value of sputum smears at 2 months to predict treatment failure. Despite these limitations, in our opinion, the main strength of our study is that it reflects the actual problem of TB treatment in a large cohort of patients in a setting with very few known data. These data may allow the identification of problems, so that the national TB programme can institute appropriate actions to improve programme performance.

In summary, we have observed that patients with positive sputum smear at 2 months have a higher risk of treatment failure; however, by itself this is a poor predictor of treatment failure. The implementation of rapid tests to detect TB resistance and new markers to monitor TB in resource-limited settings, are urgently needed in order to improve therapeutic results in patients with TB especially in those previously treated.

Acknowledgements

To all nurses and care providers in Hospital Nossa Senhora da Paz de Cubal for their contribution in patient's management and data collection. Direção Provincial de Saúde Pública da Província de Benguela Caritas Germany. Red Temática de Investigación en SIDA (RIS G03/173-RETIC RD06/0006/0039).

References

- 1 Lawn SD, Zumla AI. Tuberculosis. *Lancet*. 2011;378:57–72.
- 2 World Health Organization. Treatment of tuberculosis: guidelines for national programmes. 3rd ed. WHO/CDS/TB/2003.313. Geneva: World Health Organization; 2003.

- 3 Wallis RS, Doherty TM, Onyebujoh P, et al. Biomarkers for tuberculosis disease activity, cure, and relapse. *Lancet Infect Dis*. 2009;9:162–72.
- 4 Wilkinson D, Bechan S, Connolly C, Standing E, Short GM. Should we take a history of prior treatment, and check sputum status at 2–3 months when treating patients for tuberculosis? *Int J Tuberc Lung Dis*. 1998;2:52–5.
- 5 World Health Organization. Treatment of tuberculosis: guidelines for national programmes. 4th ed. WHO/HTM/TB/2009.420. Geneva: World Health Organization; 2010.
- 6 World Health Organization UNAIDS (2007) Guidance on provider-initiated HIV testing and counselling in health facilities. Geneva, World Health Organization.
- 7 Laserson KF, Thorpe LE, Leimane V, Weyer K, Mitnick CD, Riekstina V, et al. Speaking the same language: treatment outcome definitions for multidrug resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2005;9:640–5.
- 8 Horne DJ, Royce SE, Gooze L, Narita M, Hopewell PC, Nahid P, et al. Sputum monitoring during tuberculosis treatment for predicting outcome: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2010;10:387–94.
- 9 Deeks JJ, Altman DG. Diagnostic tests 4: likelihood ratios. *BMJ*. 2004;329:168–9.
- 10 Holtz TH, Sternberg M, Kammerer S, Laserson KF, Riekstina V, Zarovska E, et al. Time to sputum culture conversion in multidrug-resistant tuberculosis: predictors and relationship to treatment outcome. *Ann Intern Med*. 2006;144:650–9.
- 11 World Health Organization. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis: emergency update 2008. WHO/HTM/TB/2008.402. Geneva: World Health Organization; 2008.
- 12 Mitchinson DA. Assessment of new sterilizing drugs for treating pulmonary tuberculosis by culture at 2 months. *Am Rev Respir Dis*. 1993;147:1062–3.
- 13 Long NH, Johansson E, Lönnroth K, Eriksson B, Winkvist A, Diwan VK. Longer delays in tuberculosis diagnosis among women in Vietnam. *Int J Tuberc Lung Dis*. 1999;3:388–93.
- 14 Hudelson P. Gender differentials in tuberculosis: the role of socio-economic and cultural factors. *Tuber Lung Dis*. 1996;77:391–400.
- 15 Cheng G, Tolhurst R, Li RZ, Meng QY, Tang S. Factors affecting delays in TB diagnosis in rural China: a case study in four counties in Shandong Province. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2005;99:355–62.
- 16 Espinal MA, Laserson K, Camacho M, Fusheng Z, Kim SJ, Tlali RE, et al. Determinants of drug-resistant tuberculosis: analysis of 11 countries. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2001;5:887–93.
- 17 Yoshiyama T, Yanai H, Rhiengtong D, Palittapongarnpim P, Nampaisan O, Supawitkul S, et al. Development of acquired drug resistance in recurrent tuberculosis patients with various previous treatment outcomes. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2004;8:31–8.
- 18 Faustini A, Hall AJ, Perucci CA. Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe: a systematic review. *Thorax*. 2006;61:158–63.
- 19 Zignol M, Wright A, Jaramillo E, Nunn P, Raviglione MC. Patients with previously treated Tuberculosis no longer neglected. *Clin Infect Dis*. 2007;44:61–4.
- 20 Menzies D, Benedetti A, Paydar A, Royce S, Madhukar P, Burman W, et al. Standardized treatment of active tuberculosis in patients with previous treatment and/or with mono-resistance to isoniazid: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med*. 2009;6:e1000150.
- 21 Oxlade O, Schwartzman K, Pai M, Heymann J, Benedetti A, Royce S, et al. Predicting outcomes and drug resistance with standardised treatment of active tuberculosis. *Eur Respir J*. 2010;36:870–7.
- 22 Falzon D, Jaramillo E, Schünemann HJ, Arentz M, Bauer M, Bayona J, et al. WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis: 2011 update. *Eur Respir J*. 2011;38:516–28.