

Identificação e teste de susceptibilidade a drogas de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* isoladas de pacientes provenientes de Hospital Público de Referência, Goiânia/GO*

Identification and drug susceptibility test of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from patients at the Public Reference Hospital, Goiânia, Goiás

Márcia Alves Vasconcelos Rodrigues¹; Maria Cláudia D. P. Borges André¹; Suely Lemes de Alves²; Marieta Pereira M. Souza¹; André Kipnis¹ & Álvaro Bisol Serafini¹

RESUMO – Com o intuito de identificar e verificar a sensibilidade de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* isoladas de 206 amostras clínicas obtidas de formas pulmonares e extrapulmonares, provenientes de 144 pacientes externos e internos do Hospital de Doenças Tropicais do Estado de Goiás, foi realizado baciloscopia pela técnica de coloração de Ziehl-Neelsen e a cultura em Lowenstein-Jensen e sistema bifásico. A identificação foi realizada através de provas de crescimento na presença de inibidores, produção de pigmentos, tempo de crescimento e provas bioquímicas, conjuntamente com a determinação da susceptibilidade às drogas antimicobacterianas. Foram isoladas micobactérias em 13 (6,3%) amostras, sendo 12 (92,3%) identificadas como *M. tuberculosis* e uma (7,7%) do complexo *M. avium* (MAC). Das amostras isoladas, 12 apresentaram sensibilidade a isoniazida, etambutol, rifampicina, estreptomycin, pirazinamida, etionamida e somente uma amostra, apresentou resistência à isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etionamida.

PALAVRAS-CHAVE – Micobactérias, tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*.

SUMMARY – To identify and conduct susceptibility test of *Mycobacterium tuberculosis* strains, 206 clinical samples were isolated from pulmonary and extra-pulmonary forms, originating from 144 in- and out-patients of the Tropical Diseases Hospital from the Goiás State, by undergo Ziehl-Neelsen stain, cultures performed by the Lowenstein-Jensen and double phase system. The identification was based on growth in the presence of inhibiting agents, pigment production, growth time and biochemical testing, followed by the determination of susceptibility to antimycobacterial drugs. Thirteen samples (6.3%) were isolated, which 12 (92.3%) were identified as *M. tuberculosis* and one (7.7%) as *M. avium* Complex (MAC). From the isolated samples, 12 were sensitive to isoniazid, ethambutol, rifampicin, streptomycin, pirazinamid and ethionamid. Only one sample was resistant to ioniazid, rifampicin, pirazinamid and ethionamid.

KEYWORDS – *Mycobacteria*, tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*.

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença milenar que acompanha o homem no decorrer da História. Nas últimas décadas, nos países desenvolvidos, a TB apresentou declínio na incidência e mortalidade. Contudo, voltou a constituir problema nos últimos anos, pelo aumento do número de casos e à resistência às drogas. Este aumento tem sido associado às desigualdades sociais, desemprego, movimentos migratórios, negligência do poder público, perda da cultura da tuberculose pelos profissionais de saúde, quimioterapia inadequada, uso de drogas ilícitas por certos segmentos da população, aumento da expectativa de vida, imunodeficiências, como HIV, fatores culturais, religiosos etc.³.

A TB é uma doença geralmente de longa duração, raramente causada pelo *M. bovis* e mais frequen-

te pelo *M. tuberculosis*. A doença pode acometer praticamente todo o organismo, mas o pulmão é o órgão mais frequentemente acometido¹⁵.

Em 1993 a TB foi declarada "Emergência Global de Saúde" pela Organização Mundial da Saúde (OMS) por ser considerada fora de controle em diversas partes do mundo³⁹. Sendo que a OMS estabeleceu como meta para o ano 2000, como diretrizes estabelecidas para atingir seu controle, a detecção de 70% dos casos e a cura de 85% dos casos novos de TB pulmonar bacilífera⁴⁰. Esta emergência foi associada a 1/3 da população mundial infectada, mas somente 5% desenvolvem a doença ativa durante os primeiros anos após a exposição. Entretanto, isto representa 8 milhões de casos novos e 3 milhões de mortes a cada ano. Além disto, estes números estão aumentando, pois a pobreza, a deficiência nutricional e as guerras aumentam a taxa de reativação³⁴.

Recebido em 4/12/2002
Aprovado em 5/2/2003

*Trabalho realizado no Laboratório de Micobacteriologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás (UFG).
¹Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Imunologia do IPTSP/UFG; ²Laboratório Central (LACEN/GO) da Secretaria Estadual de Saúde.

O Brasil apresenta o mais elevado número de casos da América Latina (53,4 novos casos/100.000 habitantes), sendo o 6º país do mundo com maior incidência de TB³³. Mesmo países desenvolvidos, como o Reino Unido, a distribuição da TB, em grandes cidades é idêntica à de áreas pobres³⁴ e nos Estados Unidos, em 1998, o número de casos foi 35% menor do que em 1992, mas acima da meta nacional para o ano 2000².

A TB é um mal que impõe perdas expressivas à sociedade e incompatíveis com a vida social, pois a doença, no seu estágio inicial, quando o indivíduo já esta infectando outras pessoas, é confundida pelos leigos, com gripe, bronquite, alergia respiratória ou outras pneumopatias e o retardo no diagnóstico agrava o estado clínico e o processo de disseminação do bacilo³. O desequilíbrio do sistema de saúde trouxe conseqüências negativas para a pesquisa sobre TB, como tratamentos incompletos, perda de contato dos pacientes e aumento da resistência a drogas^{34,13}. A curto prazo reconhece-se que o único método para reduzir a transmissão da TB é a detecção precoce e tratamento de pacientes³⁹.

A TB pode ser identificada presuntivamente através da pesquisa direta no material clínico, ou pela combinação dos sintomas clínicos, anormalidades no raio X e teste tuberculínico positivo. Porém, o diagnóstico definitivo requer o isolamento e identificação bioquímica das micobactérias²⁶. A cultura em meios sólidos têm um papel importante, não somente por seu menor custo e eficácia, mas por propiciarem um reconhecimento rápido de eventual presença de culturas mistas^{6,36,38}.

O complexo *M. avium* consiste de um grupo de micobactérias atípicas freqüentemente encontradas nos seres humanos. Em pacientes com AIDS, estas bactérias atuam como patógenos oportunistas³⁰. Sendo ainda incerto como os seres humanos contraem infecções pelo complexo *M. avium*, embora alguns estudos descrevam o isolamento destas bactérias de amostras de alimentos¹⁸, animais^{5,22}, águas³⁷, solo⁴¹ e amostras clínicas^{9,29}. Esta preocupação deve-se à ubiquidade das micobactérias do grupo NTM (*Non Tuberculous Mycobacteria*) e existem indícios de que o trato respiratório pode ser colonizado, sem ou com apresentação de sintomas^{12,20}.

Os relatos de micobactérias resistentes a drogas remontam ao início do uso da monoterapia com estreptomicina em 1944¹⁴. Nos EUA, os estudos mostram estabilidade ou declínio de pacientes com TB resistente a drogas entre 1950 e 1986, porém, na década de 1980, a freqüência de cepas resistentes a uma ou mais drogas antituberculosas aumentou de 7,0% para 14,2%^{11,19}. Esta tendência também foi observada na França e no Brasil^{24,25}.

O esquema terapêutico, normatizado pelo Ministério da Saúde em 1978, implantado em 1979, preconiza que os casos novos de TB sejam tratados por via oral em um período de 6 meses; nos dois primeiros, três drogas são utilizadas: isoniazida, rifampicina e pirazinamida, e nos meses seguintes, isoniazida e rifampicina⁷.

O presente estudo teve como objetivos pesquisar a presença de micobactérias em pacientes com quadro clínico suspeito de TB provenientes do Hospital de Doenças Tropicais-HDT/Goiás, identificar e determinar a susceptibilidade às drogas antimicobacterianas

utilizadas na clínica médica, bem como, observar a correlação entre baciloscopia e cultura como métodos de diagnóstico para tuberculose e micobacterioses.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram colhidos 206 espécimens clínicos de 144 pacientes atendidos no HDT que apresentavam quadro clínico suspeito de TB entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000. O espécime coletado foi definido pelo médico, de acordo com a suspeita clínica e/ou a necessidade de procedimentos invasivos. Após a coleta, as amostras foram enviadas ao Laboratório de Micobacteriologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), da Universidade Federal de Goiás para a realização da baciloscopia, cultura, identificação e teste de susceptibilidade aos antimicrobianos.

Inicialmente, os espécimes clínicos foram submetidos à baciloscopia pela técnica de coloração de Ziehl-Neelsen e, em seguida, foi realizado o tratamento de descontaminação por dois métodos: de Petroff (solução de NaOH a 4%) e do lauril sulfato de sódio-SDS (solução de NaOH a 1% com SDS). As amostras sépticas consideradas multibacilares foram descontaminadas e inoculadas em dois tubos de Lowenstein-Jensen (L-J) e dois no sistema bifásico, constituído de L-J associado ao meio 7H-9, e as amostras paucibacilares inoculadas em dois tubos com sistema bifásico com incubação a 35°C-37°C⁶.

As culturas com crescimento positivo para BK foram examinadas nas primeiras 48 horas para verificação da presença de contaminação, com leituras semanais até a 8ª semana, sendo novamente submetidas à baciloscopia por Ziehl-Neelsen para comprovação da presença de bacilos álcool-ácido-resistentes (BAAR). A identificação das espécies foi feita por provas bioquímicas como: redução do nitrato, crescimento em presença de agentes inibidores (ácido tiofeno 2-carboxílico-T2H e ácido p-nitrobenzóico-PNB), tempo de crescimento e produção de niacina⁶.

O teste de susceptibilidade aos farmacos foi realizado pelo método das proporções e os resultados são relatados como a percentagem do total da população bacteriana resistente a uma determinada droga, obtida pela quantidade de crescimento no meio de cultura contendo a droga, quando comparado ao crescimento em meio sem a droga^{6,8}. Foram testadas as seguintes drogas: estreptomicina (SM) 4 µg/ml, etambutol (EMB) 2 µg/ml, etionamida (ETH) 20 µg/ml, isoniazida (INH) 0,2 µg/ml, pirazinamida (PZA) 100 µg/ml e rifampicina (RPM) 40 µg/ml^{6,8}.

RESULTADOS

Dos 206 espécimens de 144 pacientes (Tabela I), foram realizados esfregaços em lâmina do material direto, para pesquisa de bacilos álcool-ácido-resistentes, dos quais 7 (53,8%) foram positivos e 6 (46,1%) tiveram baciloscopia negativa (Tabela II). A maior freqüência de amostras suspeitas foi proveniente das formas pulmonares (58,3%), incluindo aspirado brônquico (26,7%), escarro (25,7%) e líquido pleural (5,8%).

Das 206 amostras analisadas, 13 (6,3%) foram culturas positivas, isolando-se *M. tuberculosis* em duas (15,4%) das 55 amostras de aspirado brônquico, três (23%) de 53 de escarro, duas (15,4%) de 23 de biópsia

de gânglio, uma (7,7%) de três de aspirado gástrico, uma (7,7%) de 12 secreção purulenta de pele, uma (7,7%) de duas zaragatoas de lesão anal, uma (7,7%) de 24 de urina e uma (7,7%) de 12 de líquido pleural (Tabela I). Foi isolada *M. avium* de uma (7,7%) das 22 amostras de medula óssea.

A baciloscopia, foi realizada em todas culturas positivas para confirmação dos bacilos álcool-ácido-resistentes. A percentagem de esfregaços AFB e de cultura positivas foi maior em amostras (três) de escarro.

O teste de susceptibilidade às drogas evidenciou somente uma (7,7%), proveniente de aspirado gástrico, com *M. tuberculosis* multidroga resistente (MDR) à ETH, INH, PZA e RPM, as demais cepas, incluindo a de *M. avium*, foram susceptíveis às drogas testadas.

DISCUSSÃO

Neste estudo foram analisados 206 espécimes clínicos de 144 pacientes com suspeita clínica de TB, identificando em 13 (6,3%), através de baciloscopia e cultura, a presença de *Mycobacterium* sp. A maior frequência de amostras com suspeita de infecção (46,2%) ocorreu na forma pulmonar (Tabela I). Este percentual é diferente do apresentado para o Brasil, e principalmente para o Estado de Goiás, onde 85% dos casos de TB foram de localização pulmonar e 15% extra-pulmonares¹⁶.

A baciloscopia direta do escarro é considerada como o teste mais indicado para a confirmação de tuberculose, porém um resultado negativo não elimina o diagnóstico de TB²⁶. Nosso estudo revelou 7 (3,4%) amostras positivas, como observado em Santa Maria/RS com 2,3%¹⁷ e 6 (2,9%) negativas, porém estas foram positivas pela cultura (Tabela II). Esta diferença pode ser justificada pelo menor limiar de detecção da baciloscopia em relação à cultura²³, mesmo considerando-se que esta é influenciada tanto pelo método empregado na descontaminação da amostra, como pelo meio de cultura utilizado^{1,36,38}.

A maioria dos isolados foi culturalmente e bioquimicamente caracterizada como *M. tuberculosis* (92,3%) e apenas uma amostra bacteriana foi identificada como *M. avium* (7,7%), proveniente de medula óssea. Esta cepa só foi isolada após a descontaminação com lauril sulfato de sódio e forneceu cultura negativa quando tratada pela técnica de Petroff, indicando que este tipo de amostra clínica deve ser tratada com métodos menos agressivos, pois a descontaminação mais agressiva inativa cerca de 70% das micobactérias, não devendo ser utilizado em espécimes paucibacilares, nem em material suspeito de conter NTM, pois são mais sensíveis ao NaOH^{21,38}. O baixo número de isolamentos de *M. avium*, em nosso meio^{9,17} contrasta com os de países desenvolvidos como na Noruega²⁸, Suécia³² e Finlândia³⁵, onde ocorreu incremento no seu isolamento e decréscimo no de *M. tuberculosis*.

Nossos resultados foram similares aos obtidos no Hospital da Universidade de Santa Maria/RS, onde de 476 culturas, 42 (8,8%) foram positivas para *M. tuberculosis*, sendo 19 (45,2%) provenientes de escarros¹⁷, porém distintos do obtido em Bogotá, Colômbia onde obteve-se 1,4% de isolamento de *M. tuberculosis*²⁷, bem como dos encontrados no Hospital Geral do Rio de Janeiro/RJ, onde recuperaram micobactérias de 20,6% (313/1.517) de todos pacientes⁹, sendo que *M. tuberculosis* foi identificado em 94,2% (295/313).

TABELA I
Distribuição das 206 espécimes clínicos em relação ao número de amostras analisadas e de culturas positivas, Goiânia, Janeiro de 1999 a Dezembro de 2000

Espécime clínico	Total de amostras analisadas	Culturas positivas (%)*		
		Total	%*	%**
Medula óssea	22	01	7,7	4,5
Líquido pleural	12	01	7,7	8,3
Urina	24	01	7,7	4,1
Aspirado brônquico	55	02	15,4	3,6
Escarro	53	03	23,0	5,6
Biópsia gânglio	23	02	15,4	8,7
Aspirado gástrico	3	01	7,7	33,3
Secreção purulenta pele	12	01	7,7	8,3
Lesão anal	2	01	7,7	50,0
Total	206	13	100,0	

* % positividade em relação as 13 amostras com cultura positiva.

** % positividade em relação as amostras analisadas.

TABELA II
Distribuição das 13 amostras com cultura positiva, conforme o espécime clínico, método de descontaminação, espécie de *Micobactéria* isolada e resultado da baciloscopia, em pacientes de hospital público do Estado de Goiás, Janeiro de 1999 a Dezembro de 2000

Espécime clínico	Métodos de descontaminação		Bactéria isolada	Baciloscopia
	Petroff	SDS		
Medula óssea	C-	C+	<i>M. avium</i>	Negativa
Líquido pleural	C+	C+	<i>M. tuberculosis</i>	Negativa
Urina	C+	C+	<i>M. tuberculosis</i>	Negativa
Lavado brônquico	C+	C+	<i>M. tuberculosis</i>	Positiva
Escarro	C+	C+	<i>M. tuberculosis</i>	Positiva
Biópsia	C+	C+	<i>M. tuberculosis</i>	Negativa
Escarro	C+	C+	<i>M. tuberculosis</i>	Positiva
Biópsia	C+	C+	<i>M. tuberculosis</i>	Negativa
Aspirado gástrico	C+	C+	<i>M. tuberculosis</i>	Positiva
Escarro	C+	C+	<i>M. tuberculosis</i>	Positiva
Secreção purulenta pele	C+	C+	<i>M. tuberculosis</i>	Positiva
Aspirado brônquico	C+	C+	<i>M. tuberculosis</i>	Negativa
Zaragatoa de lesão anal	C+	C+	<i>M. tuberculosis</i>	Positiva

C+ = cultura positiva; C- = cultura negativa.

Em relação ao isolamento de *M. avium*, nosso estudo confirma o realizado na Colômbia, quando, mesmo em pacientes infectados por HIV, *M. avium* foi identificado em 4,5% (13/286) dos casos²⁷ e ao do Rio de Janeiro onde detectaram NTM em 5,8% dos casos (18/313)⁹.

Em relação ao perfil de susceptibilidade das drogas antituberculosas testadas, no presente estudo, todas as cepas mostraram sensibilidade, com exceção de uma proveniente de aspirado gástrico que mostrou resistência múltipla para 4 (ETH, INH, RPM e TZA) das seis drogas testadas, identificando paciente portador de cepa de *M. tuberculosis* MDR adquirida, isto é, bacilo multirresistente proveniente de paciente com história de tratamento anterior. A ficha clínica evidenciou que o paciente encontrava-se em tratamento com esquema III, padronizado no país para uso em casos de falência às drogas de primeira linha.

A identificação dos pacientes portadores de cepas MDR é crítica, uma vez que esses poderão transmiti-las a seus contatos, principalmente, durante a admissão hospitalar, caso não sejam adotadas medidas de prevenção⁴.

O processo da resistência na TB é particularmente grave para os pacientes que receberam tratamento prévio sem sucesso. Em muitos deles, as lesões avançam por reativações repetidas e tratamento insuficientes, favorecendo o aparecimento de bacilos mutantes resistentes a uma ou mais drogas³¹. Um fator decisivo é a demora em reconhecer a presença de uma cepa resistente, assim como, a falha em observar as precauções recomendadas de isolamento do paciente e ventilação apropriada com pressão negativa nas salas e quartos de isolamento¹⁰.

De acordo com os resultados obtidos, concluímos que além da baciloscopia, a realização da cultura é importante pois permite posterior identificação, juntamente com a determinação do perfil de susceptibilidade às drogas antimicobacterianas.

Concluiu-se também que o diagnóstico definitivo de TB depende da associação de técnicas, mesmo que o resultado demande um determinado período de tempo. O controle da doença depende de um diagnóstico seguro e definitivo.

REFERÊNCIAS

1. **American Thoracic Society.** Diagnosis and treatment of disease caused by non-tuberculous mycobacteria. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 156:S1-S25, 1997.
2. **Anonymous.** Progress toward the elimination of tuberculosis – United States, 1998. *M.M.W.R.*, 48:732-6, 1999.
3. **Azevedo, J. F.** Os desafios da tuberculose. *Medicina*, 126:13-14, 2001.
4. **Barret-Connor, E.** The epidemiology of tuberculosis in physicians. *J. Am. Med. Assoc.*, 241:33-8, 1979.
5. **Bono, M.; Jemmi, T.; Bernasconi, C. et al.** Genotypic characterization of *Mycobacterium avium* strains recovered from animals and their comparison to human strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61:371-3, 1995.
6. **Brasil, Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde.** Manual de Bacteriologia da Tuberculose. 2ª ed, Rio de Janeiro, 1994, 115p.
7. **Brasil, Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde.** Reunião de avaliação operacional e epidemiológica do Programa Nacional de Controle da Tuberculose na década de 80. *Bol. Pneum. Sanit.*, (número especial):1-90, 1993.
8. **Canetti, G.; Rist, N.; Grosset, J.** Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode des proportions. *Rev. Tuberc. Pneumol.*, 27:217-72, 1963.
9. **Conde, M. B.; Figueira, C.; Moraes, R. et al.** Predictive value of the acid fast smear for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory specimens in a reference center of HIV/AIDS in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 94:787-90, 1999.
10. **Foley, N. M.; Miller, R. F.** Tuberculosis and aids, is the white plague up and coming? *J. Infect.*, 26:39-43, 1993.

11. **Frieden, T. R.; Sterling, T.; Pablos-Mendes, A. et al.** The emergence of drug-resistant tuberculosis in New York city. *N. Engl. J. Med.*, 328:521-26, 1993.
12. **Good, R. C.; Snider, D. E.** Isolation of nontuberculous mycobacteria in the United States, 1980. *J. Infect. Dis.*, 146:829-33, 1982.
13. **Grosset, J.** Current problems with tuberculosis treatment. In: 13th Forum in Microbiology. *Rev. Microbiol.*, 147:10-16, 1996.
14. **Hart, C. A.; Beeching, N. J.; Duerden, B. I.** Tuberculosis into the next century. *J. Med. Microbiol.*, 44:1-34, 1996.
15. **Hass D. W.; Prez, R. M.** *Mycobacterium tuberculosis*. In: *Principles and Practices of Infectious Disease*. 3th ed. New York, USA: Churchill Livingstone Incorporation; 1995, p2213-43.
16. **Hijjar, M. A.** Controle das doenças endêmicas no Brasil-tuberculose. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 27:23S-36S, 1994.
17. **Horner, R.; Scherer, J.; Alves, S. H. et al.** Identificação do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, isolados de pacientes do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM). *NewsLab*, 28:1-5, 1998.
18. **Horsburgh, C. R. Jr.; Chin, D. P.; Yajko, D. M. et al.** Environmental risk factors for acquisition of *Mycobacterium avium* complex in persons with human immunodeficiency virus infection. *J. Infect. Dis.*, 170:362-7, 1994.
19. **Kent, J. H.** The epidemiology of multidrug resistant tuberculosis in the United States. *Med. Clin. North Am.*, 77:1391-409, 1993.
20. **Kimoto, T.; Matsumoto, H.; Tsuyuguchi, K. et al.** Familial pulmonary *Mycobacterium avium* complex disease. *Am. J. Respir. Care Med.*, 161:1643-7, 2000.
21. **Kochi, A.** The Global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. *Tubercle*, 72:1-6, 1991.
22. **Komijn, R. E.; de Haas, P. E.; Schneider, M. M. E. et al.** Prevalence of *Mycobacterium avium* in slaughter pigs in the Netherlands and comparison of IS1245 restriction fragment length polymorphism patterns of porcine and human isolates. *J. Clin. Microbiol.*, 37:1254-9, 1999.
23. **Koneman, E.; Allen, D.; Janda, M. et al.** Diagnostic microbiology. In: **Koneman et al.** *Mycobacteria*. Philadelphia, J. B. Lippincott Company, p.703-755, 1997.
24. **Kritski, A. L.; Marques, M. J. O.; Rabahi, M. F. et al.** Transmission of tuberculosis to close contacts of patients with multidrug resistant tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 153:331-5, 1996.
25. **Liard, R.; Harf, R.; Korobaef, M.; Neukirch, F.** HIV infection and tuberculosis: an epidemiological study from a French register. *Tubercle Lung Dis.*, 75:291-6, 1994.
26. **Miller, B.; Schieffelbein, C.** Tuberculosis. *WHO Bull.*, 76:141S-143S, 1998.
27. **Murcia-Aranguren, M. I.; Gómez-Marín, J. E.; Alvarado, F. S. et al.** Frequency of tuberculous and non-tuberculous mycobacteria in HIV infected patients from Bogota, Colombia. *BMC Infect. Dis.*, 1:21-9, 2001.
28. **Myrvang, B.** Mycobacterial infections in Norway. *Scand. J. Infect. Dis.*, 98:12S-4S, 1995.
29. **Oplustil, C. P.; Teixeira, S. R.; Osugui, S. K.; Mendes, C. F.** Impacto da automação no diagnóstico de infecções por micobactérias. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, 38:167-73, 2002.
30. **Portaels, F.** Epidemiology of mycobacterial diseases. *Clin. Dermatol.*, 13:207-22, 1995.
31. **Rastogi, N.; David, H. L.** Mode of action of antituberculous drugs and mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Res. Microbiol.*, 144:133-43, 1993.
32. **Romanus, V.** Mycobacterial infections in Sweden. *Scand. J. Infect. Dis.*, 98:15S-6S, 1995.
33. **Rossetti, M. L. R.; Valim, A. R. M.; Silva, M. S. N.; Rodrigues, V. S.** Tuberculose resistente: revisão molecular. *Rev. Saúde Pública*, 36:525-32, 2002.
34. **Spence, D. P.; Hotchkiss, J.; Williams, C. S.; Davies, P. D.** Tuberculosis and poverty. *Br. Med. J.*, 307:759-61, 1993.
35. **Tala, E.; Viljanen, M.** Mycobacterial infections in Finland. *Scand. J. Infect. Dis.*, 98:7S-8S, 1995.
36. **Tortoli, E.; Cichero, P.; Chirillo M. et al.** Multicenter comparison of ESP culture system II with Bactec 460TB and Lowenstein-Jensen medium for recovery of mycobacteria from different clinical specimens, including blood. *J. Clin. Microbiol.*, 36:1378-81, 1998.
37. **von Reyn, C. F.; Waddell, R. D.; Eaton, T. et al.** Isolation of *Mycobacterium avium* complex from water in the United States, Finland, Zaire, and Kenya. *J. Clin. Microbiol.*, 31:3227-30, 1993.
38. **Wilson, M. L.; Stone, B. L.; Hildred, M. V.; Reves, R. R.** Comparison of recovery rates for mycobacteria from Bactec 12B vials, Middlebrook 7H11-selective 7H11 biplates, and Lowenstein-Jensen slants in a public health mycobacteriology laboratory. *J. Clin. Microbiol.*, 33:2516-8, 1995.
39. **WHO, World Health Organization.** Programa de la OMS contra la Tuberculosis. Marco para el control eficaz de la Tuberculosis. *WHO Bull.*, 179:1-14, 1994.
40. **WHO, World Health Organization.** TB/HIV. A clinical manual. *WHO Bull.*, 200:1-135, 1996.
41. **Yajko, D. M.; Chin, D. P.; Gonzalez, P. C. et al.** *Mycobacterium avium* complex in water, food, and soil samples collected from the environment of HIV-infected individuals. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.*, 9:176-82, 1995.

Endereço para correspondência

Profª Márcia Alves V. Rodrigues

Rua Santa Efigênci, 343 - Jd. Planalto - 74333-230 - Goiânia - GO

Fax: (0xx62)202-1236

E-mail: malves@iptsp.ufg.br