



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**ELCINEIDE SOARES DE CASTRO**

**MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS: ASPECTOS CLÍNICOS E  
EPIDEMIOLÓGICOS E ANÁLISE DE ESPÉCIES IDENTIFICADAS  
PELA METODOLOGIA PRA**

**FORTALEZA**

**2012**

**ELCINEIDE SOARES DE CASTRO**

**MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS: ASPECTOS CLÍNICOS E  
EPIDEMIOLÓGICOS E ANÁLISE DE ESPÉCIES IDENTIFICADAS  
PELA METODOLOGIA PRA**

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Helena Serra Azul Monteiro

**FORTALEZA**

**2012**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências da Saúde

---

C35m Castro, Elcineide Soares de.  
Micobactérias não tuberculosas: aspectos clínicos e epidemiológicos e análise de espécies identificadas pela metodologia PRA / Elcineide Soares de Castro. – 2012.  
202 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2012.  
Orientação: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Helena Serra Azul Monteiro

1. Infecções por Mycobacterium 2. Infecções por Micobactéria não Tuberculosa  
3. Diagnóstico I. Título.

---

CDD 616.9

**ELCINEIDE SOARES DE CASTRO**

**MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS: ASPECTOS CLÍNICOS E  
EPIDEMIOLÓGICOS E ANÁLISE DE ESPÉCIES IDENTIFICADAS  
PELA METODOLOGIA PRA**

Tese submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

Aprovada em: 21/06/2012.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Helena Serra Azul Monteiro  
Universidade Federal do Ceará-UFC  
(orientadora)

---

Profa. Valéria Góes Ferreira Pinheiro  
Universidade Federal do Ceará-UFC  
(co-orientadora)

---

Profa. Ana Maria Campos Marques  
Universidade Anhanguera – Uniderp

---

Profa. Cristiane Cunha Frota UFC  
Universidade Federal do Ceará-UFC

---

Profa. Elizabeth Clara Barroso  
Universidade de Fortaleza-UNIFOR

*Aos meus pais, Antonio Soares, para sempre presente, e Marly, pela sólida educação e pelo amor incondicional. E a doce Thais, minha filha, a quem procuro educar a luz dos sólidos ensinamentos recebidos deles.*

## **AGRADECIMENTOS**

A DEUS, Senhor de todas as coisas, pelo Dom da Vida e por permitir vivenciar esse momento acadêmico tão especial.

A Jackson Queiroz, meu marido, pela compreensão, apoio e ajuda na confecção dos gráficos e tabelas no processo da confecção da tese.

A professora Helena Serra Azul Monteiro, minha orientadora, por quem tenho admiração e respeito, por sua amabilidade e preciosas contribuições.

A professora Valéria Góes Ferreira Pinheiro, minha orientadora e amiga, grande incentivadora. Agradeço, sobretudo, a confiança e a grande parceria que aliados à atenção e ao carinho tão peculiares a sua personalidade tornaram esse trabalho rico de ensinamentos. Que orgulho ter vivenciado esse momento com tão grande ser humano.

A professora Cristiane Frota Cunha, pela cordial acolhida em seu laboratório para que fosse executada a etapa de identificação da micobactéria, importante etapa do trabalho e pela incansável disposição em ajudar.

A farmacêutica Karine Alencar Alves de Freitas, pela inestimável colaboração na execução do processamento das amostras e identificação das MNT.

A farmacêutica e bacteriologista Creusa Lima Campelo, responsável pelo LACEN, pelo incentivo, atenção e disponibilidade.

A enfermeira Maria Romi Dantas de Carvalho, do ambulatório de TBMR e MNT do hospital de Messejana, pela simpática acolhida e ajuda no trabalho de revisão dos prontuários.

A diretora da Biblioteca da Faculdade de Medicina/UFC, bibliotecária Norma Linhares pela cordial e prestimosa ajuda na correção e padronização do trabalho.

Ao Professor Roberto da Justa Pires Neto, pelas sugestões em momentos importantes deste trabalho.

As médicas **Elizabete Clara Barroso** e Tânia Regina Brígido de Oliveira, responsáveis pelo atendimento dos pacientes no ambulatório de TBMR e MNT do Hospital de Messejana, pela parceria e atenção dispensada.

As estudantes de medicina Renata Lima, Gabriela e Mariana, pela inestimável contribuição na revisão dos prontuários e coleta de dados dos pacientes.

Aos professores e funcionários do Departamento de Medicina Clínica e Serviço de Pneumologia do Hospital Universitário Walter Cantídio da UFC, pelo apoio recebido nesse período.

A Secretária da Pós Graduação do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Aura Rhanes, pela orientação precisa dos deveres burocráticos do curso e preparação da tese.

Aos médicos Antonio George Matos Cavalcante, Eanes Delgado Barros Pereira e Marcos Kubrusly, professores e amigos, pela ajuda e apoio em todos os momentos da realização do presente estudo.

*“[...] Aprende que há mais dos seus  
país em você do que você supunha”*

*(William Shakespeare)*



## RESUMO

As infecções por micobactérias não tuberculosas (MNT) estão se tornando mais frequentes em todo o mundo, inclusive no Brasil. A capacidade das MNT em produzir doença está claramente documentada na literatura e sua importância clínica vem aumentando progressivamente. Embora a micobactéria possa comprometer qualquer órgão ou sítio, a forma mais frequente de comprometimento é a doença pulmonar. Esse estudo se propôs a avaliar aspectos clínicos e epidemiológicos de pacientes com doença pulmonar por MNT e a diversidade das espécies isoladas. Foram estudados retrospectivamente, 59 pacientes inscritos para tratamento no ambulatório de referência do Hospital de Messejana, período de 1998 a 2008. As espécies de MNT isoladas em meio de cultura a partir de amostras de escarro foram identificadas através da metodologia PRA no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina, UFC e classificadas conforme a patogenicidade em potencialmente ou raramente patogênicas. As variáveis foram: ano diagnóstico, idade, procedência, sexo, profissão e risco biológico de adoecimento, grau de escolaridade, renda familiar, comorbidades, história prévia de tuberculose (TB), sorologia HIV, teste tuberculínico, história de tabagismo e etilismo, sintomas clínicos, achados radiológicos e desfecho. As variáveis categóricas e quantitativas foram analisadas através de proporções e frequências com cálculo das medidas de localização central e de dispersão para cada variável isoladamente. As análises de associações foram feitas utilizando o teste não-paramétrico de Pearson e o teste paramétrico da razão de verossimilhanças, com IC=95% e  $p = 0,05$ . Resultados: As espécies identificadas mais frequentes foram: *M. abscessus*, 28,5% (17/59); *M. lentiflavum* 18,6% (11/59); *M. avium*, 16,6% (10/59). A média de idade  $\pm$  dp do grupo foi de 50,4  $\pm$  16,1 anos; 62,7% (37/59) do sexo masculino e 62,7% tinham no máximo o ensino fundamental; 72,9% (43/59) renda até um salário mínimo; 49,2% (29/59) uso de álcool e 40,6% (24/59) tabagismo; 62,7% (37/59) profissão com risco biológico; 86% (51/59) residiam em Fortaleza; A tosse foi observada em 91,5% (54/59) e expectoração em 72,9% (43/59); Fibrose e cavidade foram observadas em 71,2% (42/59) e 45,8 (27/59), respectivamente. Sorologia HIV foi positiva em 7% (4/59); teste tuberculínico realizado em 22% (13/59), desses, 92,3% (12/13) positivos; 54% (32/59) tiveram alta por cura e 15,3% (9/59) óbito. As associações entre profissão com risco biológico e sexo feminino, profissão com risco biológico e comorbidade, e profissão e renda familiar mostraram-se significantes. A análise de associação da patogenicidade da espécie de MNT isolada com as outras variáveis do estudo não mostrou significância, ou seja, nenhuma foi discriminativa. Este estudo demonstra a importância para o reconhecimento da doença pulmonar por MNT, cujas espécies podem ser identificadas em amostras de escarro.

**Palavras-chave:** 1. Micobacterioses; 2. Infecções por Micobactéria não Tuberculosa ; 3. Micobactéria não tuberculosa; 4. Diagnóstico.

## ABSTRACT

Infections caused by nontuberculous mycobacteria (NTM) are becoming more frequent around the world and also in Brazil. The ability of produce disease is clearly documented in the literature and its importance has been increasing steadily. Although mycobacteria can affect any human organ, the most common form of involvement is the lung disease. This study aimed to evaluate clinical and epidemiological characteristics of patients with NTM lung disease and the diversity of species isolated. We studied retrospectively 59 patients enrolled for treatment at the outpatient clinic reference Messejana Hospital, from 1998 to 2008. The species of NTM isolated from sputum were identified using PRA method in the Microbiology Laboratory, Faculty of Medicine, Federal University of Ceará. The variables studied were: year of diagnosis, age, origin, gender, profession and biological risk of illness, education level, family income, clinical symptoms, comorbidity, previous history of tuberculosis (TB), radiological findings, anti-HIV serology, tuberculin test, history of smoking and alcoholism and outcome. The quantitative and categorical variables were analysed by calculating frequencies and proportions of the measures of central location and dispersion for each variable separately. The analyzes of associations were performed using the nonparametric Pearson's test and parametric test of the likelihood ratio (based on product binomial distributions / multinomial) using CI = 95% and  $p < 0,05$ . The PRA method identified all 59 species, with predominance of the following: *M. abscessus*, 28.5% (17/59); *M. lentiflavum* 18.6% (11/59); *M. avium* 16.6% (10/59); *M. fortuitum* and *M. smegmatis*, 10.2% (06/59) each; *M. kansas* 6.8% (4/59). The mean age  $\pm$  SD of the group was  $50.4 \pm 16.1$  years; 62.7% (37/59) were male and 62, 7% had at most basic education, 72.9% (43/59) with income below the poverty level, 49.2% (29/59) reported using alcohol and 40.6% (24/59) smoking, 59.3% (35/59) were involved with biological risk, 86% (51%) lived in Fortaleza. Cough was observed in 91.5% (54/59) and expectoration in 72.9% (43/59). Fibrosis and cavity were in 71.2% (42/59) and 45.8% (27/59) of the patients, respectively. HIV serology was positive in 7% (4/59), tuberculin skin test was performed in only 22% (13/59), of which 92.3% (12/13) were positive, 54% (32/59) had cured and 15.3% (9/59) had died. The associations between the variable profession with biological risk and gender (60% female), and between profession with biological risk and comorbidity (75% had associated disease), and profession with biological risk and family income proved to be significant. The association analysis of the groups of species of NTM isolated, if potentially pathogenic or rarely pathogenic with the others different study variables were not significant, thus did not discriminate to differentiate the groups. This study demonstrated the importance for the recognition of NTM lung disease whose species can be identified in sputum samples and for the epidemiological importance and the need for differential diagnosis in cases of tuberculosis.

**Key words:** 1. Mycobacteriosis. 2. Infections caused by nontuberculous mycobacteria. 3. Nontuberculous mycobacteria. 4. Diagnostic.

## LISTA DE FIGURAS

|  |  |  |
|--|--|--|
|  |  |  |
|  |  |  |

|                   |   |     |
|-------------------|---|-----|
|                   |   |     |
|                   |   |     |
| <b>Figura 1.</b>  | Morfologia das Micobactérias  | 35  |
| <b>Figura 2.</b>  | Esfregaços de Cultura de Micobactérias  | 36  |
| <b>Figura 3.</b>  | Colônias de Micobactérias de Crescimento Rápido   | 36  |
| <b>Figura 4.</b>  | Esquema Representativo da Parede Celular da<br>Micobactéria   | 38  |
| <b>Figura 5.</b>  | Representação Esquemática dos Diversos<br>Componentes da Parede Celular das Micobactérias   | 39  |
| <b>Figura 6.</b>  | Cultura de MNT em Meio Inibitório com PNB   | 50  |
| <b>Figura 7.</b>  | Eletoforese em Gel de Agarose UltraPure™<br>Agarose-1000 4%, Mostrando o Padrão das Bandas<br>que Caracterizam Diferentes Espécies de<br><i>Mycobacterium</i> sp. | 55  |
| <b>Figura 8.</b>  | PRASITE   | 56  |
| <b>Figura 9.</b>  | Localização de Iniciadores  | 57  |
|                   |   |     |
| <b>Figura 10.</b> | Fluxograma de Seleção dos Pacientes Encaminhados<br>ao Ambulatório de MNT do Hospital de Messejana.   | 105 |
|                   |   |     |
| <b>Figura 11.</b> | Distribuição dos Pacientes Segundo o Ano do<br>Diagnóstico da Doença.   | 106 |
|                   |   |     |
| <b>Figura 12.</b> | Boxplot da Idade dos Pacientes com Doença<br>Pulmonar por MNT na Época do Diagnóstico.  | 107 |
|                   |   |     |
| <b>Figura 13.</b> | Distribuição dos Pacientes Segundo o Risco<br>Biológico de Contrair Infecção por MNT de acordo<br>com Atividade Profissional                                      | 111 |
|                   |   |     |
| <b>Figura 14.</b> | Distribuição dos Pacientes Segundo a Procedência  | 112 |
|                   |   |     |
| <b>Figura 15.</b> | Distribuição dos Pacientes conforme a Secretaria<br>Regional Municipal a que Pertencia o Bairro de<br>Residência.   | 113 |
|                   |   |     |
| <b>Figura 16.</b> | Distribuição dos Pacientes Segundo Resultado do   |     |

|                   |   |     |
|-------------------|---|-----|
|                   | Teste Tuberculínico   | 120 |
| <b>Figura 17.</b> | Freqüência de Positividade ao Teste Tuberculínico em Relação à História Prévia de Tuberculose   | 121 |
| <b>Figura 18.</b> | Freqüência de Sorologia Anti HIV no Grupo de Pacientes com Doença Pulmonar por MNT Estudados  | 122 |
| <b>Figura 19.</b> | Distribuição dos Pacientes Segundo Desfecho do Caso   | 124 |
| <b>Figura 20.</b> | Eletroforese em Gel de Agarose UltraPure™ Agarose-1000 4%, Mostrando o Padrão de Bandas que Caracterizam Diferentes Espécies de <i>Mycobacterium</i> sp | 127 |
| <b>Figura 21.</b> | Distribuição dos Pacientes Quanto ao N° de Espécies de MNT Identificadas por Amostra de Escarro   | 129 |
| <b>Figura 22.</b> | Freqüência de Espécies de MNT Identificadas que se Apresentaram de Forma Associada  | 130 |
| <b>Figura 23.</b> | Distribuição dos Pacientes Segundo a Patogenicidade da Micobactéria   | 131 |
| <b>Figura 24.</b> | Distribuição dos Pacientes Segundo a Patogenicidade da MNT, após o Agrupamento  | 132 |
| <b>Figura 25.</b> | Freqüência de Positividade ao Teste Tuberculínico dos Pacientes de Acordo com a Patogenicidade da MNT   | 137 |
| <b>Figura 26.</b> | Freqüência do Número de Sintomas Respiratórios e Sistêmicos nos Pacientes com MNT de Acordo com a Patogenicidade da Espécie                             | 142 |
| <b>Figura 27.</b> | Distribuição dos Sintomas Tosse e/ou Expectoração no Grupo de Pacientes de Acordo com a Patogenicidade da MNT   | 143 |
| <b>Figura 28.</b> | Freqüência do Número de Achados Radiológicos de Pacientes com MNT de Acordo com a Patogenicidade da Espécie   | 145 |
| <b>Figura 29.</b> | Distribuição Percentual dos Achados, Fibrose e/ou Cavidade por Grupo de Pacientes de Acordo com Patogenicidade da MNT                                   | 146 |
| <b>Figura 30.</b> | Relação entre os Achados Clínicos e Radiológicos Observados nos Grupos de Pacientes com MNT Potencialmente Patogênica e Raramente Patogênica            | 147 |

|                   |   |     |
|-------------------|---|-----|
| <b>Figura 31.</b> | Desfecho do Tratamento no Grupo de Pacientes com Doença Pulmonar por MNT de Acordo com o Potencial Patogênico | 148 |
| <b>Figura 32.</b> | Desfecho dos Pacientes com Doença Pulmonar por MNT e Presença de Sintomas Respiratórios                       | 149 |
| <b>Figura 33.</b> | Desfecho dos Pacientes com Doença Pulmonar por MNT e Presença de Sintomas Sistêmicos                          | 150 |
| <b>Figura 34.</b> | Freqüência de Pacientes Segundo o Desfecho e a Presença de Achados Radiológicos Fibrose e/ou Cavidade         | 151 |

## LISTA DE TABELAS

|  |  |  |
|--|--|--|
|  |  |  |
|  |  |  |

|                    |  |     |
|--------------------|--|-----|
| <b>Tabela 1 -</b>  | Distribuição das Características Demográficas e Sociais de Pacientes com Doença Pulmonar por MNT Estudados no HM no Período de 1988 a 2008 | 108 |
| <b>Tabela 2-</b>   | Classificação das Profissões por Categoria dos Pacientes Estudados   | 110 |
| <b>Tabela 3 -</b>  | Distribuição: Profissão dos Pacientes Vs. Sexo   | 114 |
| <b>Tabela 4 -</b>  | Distribuição: Profissão Vs. Procedência  | 115 |
| <b>Tabela 5 -</b>  | Distribuição dos Pacientes Conforme Profissão e Renda Familiar (em salários mínimos)   | 116 |
| <b>Tabela 6 -</b>  | Distribuição dos Pacientes Segundo a Presença de Sintomas Respiratórios  | 117 |
| <b>Tabela 7-</b>   | Distribuição dos Pacientes Segundo a Presença de Sintomas Sistêmicos   | 118 |
| <b>Tabela 8 -</b>  | Distribuição: Profissão dos Pacientes Vs. Comorbidades   | 119 |
| <b>Tabela 9 -</b>  | Distribuição dos Pacientes Segundo os Achados Radiológicos   | 123 |
| <b>Tabela 10 -</b> | Distribuição dos Pacientes Segundo o Material Biológico Usado para Pesquisar a Presença da Micobactéria                                    | 126 |
| <b>Tabela 11-</b>  | Diversidade e Frequência de Micobactérias Identificadas pela Metodologia PRA, Isoladas ou Agrupadas, em Amostras Biológicas nos            |     |

|                    |  |     |
|--------------------|--|-----|
|                    | Pacientes Estudados  | 128 |
| <b>Tabela 12-</b>  | Distribuição das Espécies de MNT Isoladas pela Metodologia PRA Conforme a Patogenicidade                           | 133 |
| <b>Tabela 13 -</b> | Distribuição dos Dados Demográficos dos Pacientes Segundo a Patogenicidade da Micobactéria                         | 135 |
| <b>Tabela 14 -</b> | Resumo Descritivo da Idade dos Pacientes na Época do Diagnóstico Segundo a Patogenicidade da Micobactéria Isolada  | 136 |
| <b>Tabela 15 -</b> | Distribuição dos Pacientes Segundo Teste Tuberculínico, História Prévia de TB e MNT                                | 138 |
| <b>Tabela 16 -</b> | Distribuição Percentual dos Dados Clínicos: História Prévia de TB, Sorologia AntiHIV e Comorbidades, Segundo a MNT | 139 |
| <b>Tabela 17-</b>  | Distribuição dos Pacientes Conforme os Sintomas Respiratórios e MNT Potencialmente e Raramente Patogênica          | 140 |
| <b>Tabela 18 -</b> | Distribuição dos Pacientes Conforme os Sintomas Sistêmicos e a MNT Isolada, Potencialmente e Raramente Patogênica  | 141 |
| <b>Tabela 19 -</b> | Distribuição e Frequência dos Achados Radiológicos nos Pacientes de acordo com a sua Inclusão no Grupo Patogênico  | 145 |

## LISTA DE QUADROS

|  | <b>Página</b> |
|--|---------------|
| <b>Quadro 1.</b> Classificação das MNT de Acordo com o Tempo de Crescimento e Produção de Pigmento | 42            |
| <b>Quadro 2.</b> Classificação das Espécies de MNT de Acordo com a Patogenicidade                  | 44            |
| <b>Quadro 3.</b> Padrão dos Fragmentos de Digestão das Enzimas <i>BstEII</i> e <i>HaeIII</i>       | 100           |
| <b>Quadro 4.</b> Padrão de Bandas das Enzimas de Endorrestrição para <i>M. lentiflavum</i>         | 101           |
| <b>Quadro 5.</b> Resumo dos Fatores para Estabelecer o Diagnóstico de Doença com MNT               | 176           |



## LISTA DE SIGLAS

- Aids** - Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
- ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ATS** - American Toracic Society – Sociedade Americana de Tórax
- BAAR** - Bacilos Álcool-Ácido Resistentes
- CDC** - Center for Disease Control and Prevention
- CLSI** - Clinical and Laboratory Standards Institute
- CMNT** - Colônia de Micobactérias Não Tuberculosas
- CMTB** - Complexo *Mycobacterium Tuberculosis*
- DNA** - Ácido Desoxirribonucléico
- GLC** - Cromatografia Gás e Líquido
- HAART** - Highly Active Anti-Retroviral Therapy
- HIV** - Vírus da Imunodeciência Humana

- HM** - Hospital de Messejana
- HMA** - Heteroduplex Mobility
- HPLC** - Cromatografia Líquida de Alta Performance
- IWGMT** - International Working Group on Mycobacteria Taxonomy – grupo de trabalho internacional em taxonomia das micobactérias.
- LACEN** - Laboratório Central
- LBA** - Lavado Broncoalveolar
- LJ** - Löwenstein-Jensen
- MAC** - Complexo *Mycobacterium avium*
- MCR** - Micobactéria de Crescimento Rápido
- MNT** - Micobactéria não tuberculosa
- MOTT** - Mycobacteria Other Than Tuberculosis
- NAP** - p-nitro a-cetitoma-â
- OMS** - Organização Mundial de Saúde

- PBS -** Phosphate- Buffered Saline
- PCR -** Polymerase Chain Reaction - Reação de Polimerase em cadeia)
- PNB -** Ácido p-nitrobenzoato ou ácido para-nitrobenzóico
- PRA -** PCR- restriction endonuclease analysis
- rRNA -** Ácido Ribonucléico Ribossômico
- SUS -** Sistema Único de Saúde
- TB -** Tuberculose
- TBMDR -** Tuberculose Multidrogarresistente
- TCAR -** Tomografia Computadorizada de Alta Resolução
- TCH -** Ácido 2-tiofenocarboxílico
- TLC -** Cromatografia de Camada Fina
- WHO -** World Health Organization – Organização Mundial de Saúde

# SUMÁRIO

|              |  |           |
|--------------|--|-----------|
| <b>1</b>     | <b>INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>28</b> |
| <b>1.1</b>   | <b>Micobactéria não tuberculosa</b> .....  | <b>29</b> |
| <b>1.1.1</b> | <b>História</b> .....  | <b>29</b> |
| <b>1.1.2</b> | <b>Micobactérias não tuberculosas (MNT) – conceito, características, classificação e identificação</b> ..... | <b>34</b> |
| 1.1.2.1      | Conceito.....  | 34        |
| 1.1.2.2      | Características .....  | 36        |
| 1.1.2.3      | Classificação .....  | 42        |
| 1.1.2.4      | Identificação da MNT .....   | 46        |
| 1.1.2.4.1    | Identificação Fenotípica .....   | 48        |
| 1.1.2.4.2    | Sistema Bactec 460TB.....  | 50        |
| 1.1.2.4.3    | Análise de Ácidos Micólicos.....   | 50        |
| 1.1.2.4.4    | Identificação Genotípica ou Métodos Moleculares.....   | 51        |
| 1.1.2.4.4.a  | Sondas de DNA .....  | 52        |
| 1.1.2.4.4.b  | Sequenciamento de DNA.....   | 52        |
| 1.1.2.4.4.c  | PCR e Análise com Endonucleases de Restrição .....   | 54        |
| <b>1.1.3</b> | <b>Epidemiologia</b> .....   | <b>59</b> |
| 1.1.3.1      | Distribuição Geográfica Mundial .....  | 59        |
| 1.1.3.2      | Panorama no Brasil e a ocorrência de surtos .....  | 62        |
| 1.1.3.3      | Situação do Ceará .....  | 66        |
| <b>1.1.4</b> | <b>Patogênese</b> .....  | <b>66</b> |
| 1.1.4.1      | Formas Clínicas .....  | 68        |
| 1.1.4.1.1    | Doença Disseminada.....  | 68        |
| 1.1.4.1.2    | Doença dos Linfonodos .....  | 71        |
| 1.1.4.1.3    | Pele, Tecidos, Tecidos moles e Doença óssea .....  | 74        |
| 1.1.4.1.4    | Doença do Globo Ocular.....  | 77        |
| 1.1.4.1.5    | Doença do trato gênito-urinário.....   | 77        |
| 1.1.4.1.6    | Outros sítios mais raros de doença por MNT.....  | 78        |
| 1.1.4.1.7    | Doença Pulmonar e Pleural .....  | 79        |
| <b>1.1.5</b> | <b>Manifestações Clínicas</b> .....  | <b>82</b> |
| <b>1.1.6</b> | <b>Diagnóstico Radiológico</b> .....   | <b>82</b> |
| <b>1.1.7</b> | <b>Diagnóstico Laboratorial</b> .....  | <b>83</b> |
| <b>1.1.8</b> | <b>Tratamento</b> .....  | <b>85</b> |
| <b>2</b>     | <b>JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS</b> .....   | <b>88</b> |
| <b>2.1</b>   | <b>Justificativa</b> .....   | <b>89</b> |
| <b>2.2</b>   | <b>Hipóteses</b> .....   | <b>90</b> |
| <b>2.3</b>   | <b>Objetivo Geral</b> .....  | <b>90</b> |
| <b>2.3.1</b> | <b>Objetivos Específicos</b> .....   | <b>91</b> |

|              |  |            |
|--------------|--|------------|
| <b>3</b>     | <b>METODOLOGIA.....</b>  | <b>92</b>  |
| <b>3.1</b>   | <b>Delineamento do Estudo .....</b>                                | <b>93</b>  |
| <b>3.2</b>   | <b>Local de Realização .....</b>                                   | <b>93</b>  |
| <b>3.3</b>   | <b>População de Estudo.....</b>                                    | <b>94</b>  |
| <b>3.4</b>   | <b>Seleção de Pacientes.....</b>                                   | <b>94</b>  |
| <b>3.4.1</b> | <b>Critérios de Inclusão e Exclusão .....</b>                      | <b>94</b>  |
| <b>3.5</b>   | <b>Aspectos Éticos .....</b>                                       | <b>95</b>  |
| <b>3.6</b>   | <b>Protocolo Clínico de Estudo .....</b>                           | <b>95</b>  |
| <b>3.6.1</b> | <b>Questionário Clínico-epidemiológico.....</b>                    | <b>95</b>  |
| <b>3.6.2</b> | <b>Diagnóstico de Doença Pulmonar por MNT .....</b>                | <b>97</b>  |
| 3.6.2.1      | Critérios Clínicos e Radiológicos .....                            | 97         |
| 3.6.2.2      | Critérios Microbiológicos .....                                    | 98         |
| 3.6.2.2.1    | Extração de DNA das Amostras .....                                 | 98         |
| 3.6.2.2.2    | Amplificação das Amostras por PCR .....                            | 99         |
| 3.6.2.2.3    | Digestão Enzimática (RFLP) e Identificação das Amostras ....       | 100        |
| <b>3.6.3</b> | <b>Esquema Geral do Projeto .....</b>                              | <b>101</b> |
| <b>3.6.4</b> | <b>Análise Estatística .....</b>                                   | <b>102</b> |
| <b>4</b>     | <b>RESULTADOS .....</b>  | <b>103</b> |
| <b>4.1</b>   | <b>Esquema Geral de Seleção dos Pacientes .....</b>                | <b>104</b> |
| <b>4.2</b>   | <b>Características Demográficas e Sociais .....</b>                | <b>105</b> |
| <b>4.2.1</b> | <b>Encaminhamento e Ano do Diagnóstico .....</b>                   | <b>105</b> |
| <b>4.2.2</b> | <b>Sexo, Idade, Escolaridade, Renda e Hábitos Sociais .....</b>    | <b>107</b> |
| <b>4.2.3</b> | <b>Profissão.....</b>  | <b>109</b> |
| <b>4.2.4</b> | <b>Procedência.....</b>  | <b>111</b> |
| <b>4.3</b>   | <b>Associação dos Parâmetros Demográficos e Sociais.....</b>       | <b>114</b> |
| <b>4.3.1</b> | <b>Profissão e Sexo .....</b>                                      | <b>114</b> |
| <b>4.3.2</b> | <b>Profissão e Procedência .....</b>                               | <b>115</b> |
| <b>4.3.3</b> | <b>Profissão e Renda Familiar .....</b>                            | <b>116</b> |
| <b>4.4</b>   | <b>Características Clínicas e Radiológicas .....</b>               | <b>116</b> |
| <b>4.4.1</b> | <b>Sintomas.....</b>   | <b>117</b> |
| <b>4.4.2</b> | <b>História Prévia de Tuberculose Pulmonar e Comorbidades.....</b> | <b>118</b> |
| <b>4.4.3</b> | <b>Teste Tuberculínico .....</b>                                   | <b>119</b> |
| <b>4.4.4</b> | <b>Sorologia anti HIV .....</b>                                    | <b>122</b> |

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| 4.4.5 | Achados Radiológicos .....  | 123 |
| 4.4.6 | Desfecho .....  | 124 |
| 4.5   | Avaliação das Características Biológicas das Amostras Estudadas ..... | 126 |
| 4.5.1 | Identificação e Classificação das Espécies de Micobatérais .....      | 126 |
| 4.6   | Associação entre MNT e as Características dos Pacientes .....         | 134 |
| 4.6.1 | Dados Demográficos e MNT .....  | 134 |
| 4.6.2 | Teste Tuberculínico e MNT .....                                       | 137 |
| 4.6.3 | Teste Tuberculínico, História Prévia de TB e MNT .....                | 138 |
| 4.6.4 | Sorologia Anti HIV, Comorbidades e MNT .....                          | 139 |
| 4.6.5 | Sintomas e MNT .....  | 140 |
| 4.6.6 | Achados Radiológicos e MNT .....                                      | 145 |
| 4.6.7 | Desfecho e MNT .....  | 151 |
| 5     | DISCUSSÃO .....   | 155 |
| 5.1   | Seleção dos Casos .....   | 159 |
| 5.2   | Seleção das Características Estudadas .....                           | 159 |
| 5.3   | Características Epidemiológicas e Clínicas .....                      | 160 |
| 5.4   | A Metodologia PRA para a Identificação da MNT .....                   | 164 |
| 6     | CONCLUSÃO .....   | 178 |
|       | REFERÊNCIAS .....   | 180 |
|       | ANEXOS .....  | 218 |
|       | ANEXO A .....   | 219 |
|       | ANEXO B .....   | 221 |
|       | ANEXO C .....   | 222 |
|       | ANEXO D .....   | 224 |
|       | ANEXO E .....   | 225 |
|       | ANEXO F .....   | 226 |

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Micobactéria não tuberculosa

### 1.1.1 História

O estudo das micobactérias confunde-se com o próprio surgimento da microbiologia clínica. O primeiro representante do gênero descrito como agente causador de doença humana foi o *Mycobacterium Leprae*, descrito por Gerhard Armauer Hansen, em 1873. Em 1882 Robert Koch, apresentou ao mundo o *M. tuberculosis*, o agente etiológico da tuberculose (TB) contribuindo assim para a criação da microbiologia clínica. Koch em seu artigo original “*Die Ätiologie der Tuberkulose*”, demonstra a associação entre a presença de microrganismos e a ocorrência da tuberculose doença (KOCH, 1932).

Três anos depois, em 1885, o próprio Robert Koch descreveu outras espécies de micobactérias diferentes do *M. leprae* e que, como também não pertenciam ao complexo *M. tuberculosis* foram inicialmente denominadas de micobactérias atípicas. Essa denominação inicial sofreu mudanças ao longo dos anos, sendo reconhecidas como micobactérias ambientais, micobactérias oportunistas, micobactérias outras que não tuberculose (do inglês *mycobacteria other than tuberculosis* – MOTT) e só mais recentemente recebeu a denominação que na atualidade é a mais usada, micobactérias não tuberculosas (MNT) (MELLO et al., 2009; WAYNE et al., 1969; FALKINHAM III, 1996; KATOCH, 2004).

A associação das MNT com doenças, no entanto, só passou a ser reconhecida a partir da década de 50. Inicialmente por Timpe e Runyon em 1954 que descreveram os primeiros casos de doença em humanos por MNT, e posteriormente na mesma década, por Crow e colaboradores em 1957 que apresentaram uma série de casos de pacientes com doença pulmonar com manifestações semelhantes à tuberculose, embora com epidemiologia distinta, e que não foram identificados como portadores do *M. tuberculosis*; Os autores descreviam a doença em indivíduos idosos, brancos, muitos deles com passado de doença pulmonar crônica, como silicose, bronquiectasia, dentre outras, ou pacientes tratados anteriormente para tuberculose. (TIMPE; RUNYON., 1954; CROW et al., 1957; LEWIS et al., 1960; ATS, 2007).

Em 1979, Wolinsky publicou um artigo de revisão no qual apresenta diversas evidências da associação das MNT com doença, tanto em animais como no homem e estabelece as bases da epidemiologia e patogenia das MNT. Finaliza o artigo ressaltando a importância das MNT e incentivando a necessidade de novos estudos com enfoque na epidemiologia, patogenia e identificação das espécies de MNT (WOLINSKY, 1979). Essa revisão foi seguida por uma série de publicações tanto nos Estados Unidos como na Europa e culminou com a realização de um evento internacional reunindo diversos pesquisadores com finalidade de estabelecer as bases para o estudo da epidemiologia, patogenia, taxonomia, genética e biologia molecular das MNT. Essa conferência internacional foi realizada em Denver, Colorado, Estados Unidos, ainda no mesmo ano da publicação de Wolinsky e foi promovida pelo *National Jewish Hospital* (WOLINSKY, 1979; DAVIDSON, 1981). Ambos os documentos, o de Wolinsky e o resultante da conferência internacional são considerados como ponto de partida para qualquer proposta de estudo em micobactéria não tuberculosa.

Assim, ao longo do século XX, observou-se um número grande de publicações com destaque no estudo da epidemiologia, métodos de identificação das espécies e nas formas de apresentação da doença causada pelas MNT.

A epidemia mundial da Aids iniciada na década de 80 mudou radicalmente o panorama da doença por MNT. Antes e até meados da década de 80, a maioria dos casos descritos sobre as infecções causadas por MNT referiam-se a doenças pulmonares causadas pelo *M. kansasii* e *Complexo M. avium* (MAC), doenças cutâneas causadas por *M. marinum* e linfadenopatias cervicais por *M. scrofulaceum* (ANDRADE, 1986; 1994; SANDERS et al., 1995; FALKINHAM III, 1996). Até então a doença por essas micobactérias apresentava-se mais comumente de forma localizada, em um órgão isolado, como pulmão, pele ou linfonodos cervicais, só excepcionalmente observava-se a forma disseminada (WOLINSKY, 1979). A grande maioria dos pacientes acometidos na forma pulmonar apresentava alterações parenquimatosas pré-existentes devido a afecções pulmonares como silicose, fibrose cística e enfisema pulmonar.

A partir de 1982 quando apareceram os primeiros casos de Aids nos Estados Unidos observou-se um rápido aumento da incidência, bem como na forma



de comprometimento da doença por MNT. Dados divulgados a partir da primeira metade da década de 80 já demonstravam que 25 a 50% dos pacientes com diagnóstico de Aids nos Estados Unidos e Europa estavam infectados por MNT (HORSBURGH et al., 1985; YOUNG et al., 1986; PRINCE et al., 1989; YATES et al., 1986). O impacto da doença na morbidade e mortalidade de pacientes com Aids estimulou estudos com novas abordagens em epidemiologia, ecologia, genética, biologia molecular e fisiologia das MNT.

A década de 90 demonstrou-se marcada pelo aumento preocupante e significativo nas taxas de infecção por MNT no mundo (HORSBURGH, 1991; RAJU et al., 1992; SAAD et al., 1997; SANDERS et al., 1995; NIGHTINGALE et al., 1992). Estudo realizado pelo *Center for Disease Control* (CDC) nos Estados Unidos, nos anos de 1991 e 1992, incluindo 33 laboratórios, mostrou elevação nas taxas de isolamento de *MAC* (26%) quando em comparação com as de *M. tuberculosis* que representaram 8,6%, e um fator determinante para esse aumento relatado no estudo CDC foi atribuído à pandemia da Aids, principalmente na forma de doença disseminada pelo *MAC* (HORSBURGER et al., 1989; BARRETO et al., 1993; FALKINHAM III, 1996; CDC, 1996).

A doença por micobactéria não tuberculosa até então era mais freqüentemente observada em pacientes nos países desenvolvidos do que nos países em desenvolvimento (CONTRERAS et al., 1998; MARTÍNEZ-MORAGÓN et al., 2001; VON REY et al., 1993; WOLINSKY, 1992; WINTHROP AT AL., 2005). Nos Estados Unidos onde a incidência de tuberculose era baixa, observava-se de forma contrastante alta incidência de infecção por MNT. Os pacientes com Aids, além de contribuírem de forma significativa para essa estatística, apresentavam geralmente a forma disseminada da micobacteriose. Nesses pacientes também se observava que o principal agente identificado era o complexo *M. avium*. A freqüência da doença causada por outras espécies de micobactéria como *M. kansasii* e *M. intracellulare*, considerada alta antes da pandemia da Aids, mostrava sinais de queda. Isso não significava que a doença por essas espécies de MNT tinham reduzido, mas sim que a associação Aids - *MAC* (Síndrome de imunodeficiência adquirida e Complexo *Mycobacterium avium*) superava em grande número as infecções por outras micobactérias (WINTHROP et al., 2005; VON REY et al., 1996; HORSBURGER, et al., 1996; CHIN et al., 1994, FRANÇA; AMATO, 1995).

Essa distribuição diferenciada da MNT causadora da infecção no paciente com Aids foi muito bem documentada na literatura, embora a causa determinante da preferência das infecções por MNT no paciente com Aids não estivesse esclarecida (BARRETO et al., 1993, CHIN et al., 1994, FALKINHAM III, 1996; HORSBURGER et al., 1989; MARTINÉZ-MORAGON et al., 2001).

Outra questão epidemiológica levantada pelo binômio Aids e MAC foi quanto à porta de entrada da micobactéria. Antes do advento da Aids e na ausência de evidência de transmissão de pessoa para pessoa, a forma pulmonar da infecção por MNT tinha como rota de contaminação a inalação de partículas aerossolizadas (WOLINSKY, 1979; HOCQUELOUX et al., 1998; GOOD et al., 1982). A única exceção era a linfadenite cervical causada pelo *M. scrofulaceum* em crianças e granulomas cutâneos por *M. marinum*, nos quais a fonte de infecção identificada era exposição à água contaminada (WOLINSKY, 1995; DANTEC et al., 1989; GUPTA et al., 1993). Entretanto em pacientes imunodeprimidos ou com Aids em particular, cujas formas disseminadas eram predominantes, evidenciava-se que além da forma pulmonar, a infecção podia ocorrer também via trato gastrointestinal, ou até mesmo por ambas as formas. Assim em relação à transmissão, uma quantidade maior de fontes e diferentes rotas de entrada passaram a merecer melhor investigação em pacientes com Aids (HADAD et al., 1995; ELNER; GOLDBERGER; PARENTI, 1991; ZAUGG et al., 1993).

Passado o susto da Aids, determinado pelo controle da doença obtido através da terapia antiretroviral altamente ativa (HAART), passou-se a se observar o aumento da prevalência de isolamento de MNT em diversos espécimes biológicos fosse de pulmão, de pele ou de outros tecidos também em pacientes imunocompetentes, demonstrado por vários pesquisadores (GUTHERTZ et al., 1989; JARZEMBOWSKI et al., 2008; CHIN et al., 1994; MARTINÉZ-MORAGON et al., 2001; ISEMAN, 1989; HUANG et al., 1999; HENRY et al., 2004; KOH et al., 2002). Novos estudos para determinação de taxas de prevalência da doença pulmonar por MNT foram conduzidos em diversos outros países (EDWARDS; PALMER, 1959, HORNICK et al., 1988; BROSCHE et al., 2002).

Winthrop e colaboradores conduziram um estudo com objetivo de determinar a prevalência da doença por MNT, características clínicas, fatores de

risco entre outras variáveis, em indivíduos sintomáticos respiratórios residentes no estado de Oregon, EUA no período entre 2005 e 2006 e encontraram taxas de isolamento de MNT de 20,4/100.000 habitantes, enquanto para a tuberculose essas taxas para essa mesma população mostraram valores de 6,7/100000 habitantes (WINTHROP et al., 2006).

No Brasil, o estudo pioneiro em MNT foi descrito por Costa Cruz em 1938, no qual apresentou uma infecção cutânea causada pelo *M. fortuitum* (CRUZ, 1938). Ao longo dos anos, várias outras publicações sucederam ao estudo de Cruz, embora se resumissem a descrição de casos isolados e respectivas espécies envolvidas. Aos poucos o gênero foi se tornando mais conhecido, e várias outras espécies foram aparecendo em estudos brasileiros, entre elas, *M. abscessus*, o *M. fortuitum* espécies inicialmente associadas à contaminação de injeções, causando abscessos na pele e no tecido subcutâneo. (AZULAY, 1974; ANDRADE; SANTIAGO, 1971; PALHANO et al., 1986; FERREIRA; SILVA; FONSECA, 1997; CORREA et al., ano).

A não obrigatoriedade de notificação no Brasil, determinada pelo fato da doença causada por MNT não ser transmissível, torna o indicador de incidência no Brasil, desconhecido; Contudo, estudos realizados na década de 90, alguns deles em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) demonstraram variação entre 15% e 37% nas taxas de isolamento (BARRETO et al., 1993; FERREIRA; SILVA; FONSECA, 1997, 2002; FANDINHO et al., 1997; CONDE et al., 1999).

### **1.1.2 Micobactérias não tuberculosas (MNT) – conceito, características, classificação e identificação**

#### **1.1.2.1 Conceito**

As micobactérias pertencem ao domínio Bactéria, ordem *Actinomycetales*, Subordem *Corynebacterineae*. O gênero *Mycobacterium*, único da família *Mycobacteriaceae*, é um dos mais antigos, criado por Lehmann e Neumann em 1896, e contém muitas espécies de patógenos estritos e oportunistas que acometem igualmente humanos e animais (PFYFFER et al., 2003; BROWN-ELLIOTT; WALLACE, 2002; WALLACE, 2005). A denominação do gênero originou-se do latim “*fungus bacterium*”, pelo fato do *M. tuberculosis* apresentar algumas características

semelhantes aos fungos quando cultivado em meio líquido (COLLINS; GRANJE; YATES,1997). Posteriormente, foram visualizados e isolados, tanto no homem como no meio ambiente, vários outros bacilos com as mesmas características tintoriais do *M. tuberculosis*, entretanto, com diversificações no tempo de crescimento *in vitro*, produção de pigmentos e patogenicidade para os seres humanos. Esta taxonomia baseia-se em três critérios: resistência à descoloração por álcool-ácido, síntese de ácidos micólicos e porcentagem de citosina e guanina do DNA genômico compreendida entre 61mol% e 71mol% (FU et al., 2002; WANG et al., 2010). Este gênero tem sofrido atualizações constantes e atualmente mais de 148 espécies e 11 subespécies estão catalogadas e facilmente encontradas na página eletrônica: <http://www.bacterio.cict.fr/m/mycobacterium.htm> (EUZÉBY, 2010; MCNABB et al., 2004; TORTOLI, 2003; DMZ, 2005).

O gênero *Mycobacterium* é constituído por espécies do complexo *M. tuberculosis*, *M. leprae* e *Micobacteria* não tuberculosa (COLLINS; GRANJE; YATES,1997; BROSCHE et al., 2002). As espécies pertencentes ao complexo *M. tuberculosis* causam a doença tuberculose, no homem e/ou animal. Esse complexo é composto pelas espécies *M. tuberculosis*, principal agente causador da tuberculose no homem; *M. bovis*, principal agente da tuberculose bovina; *M. africanum*, agente da tuberculose no homem, essencialmente limitado à África e o *M. microti*, agente causador da tuberculose em roedores e pequenos mamíferos e que embora raro, já foi associado à doença em seres humanos imunocomprometidos (VAN SOOLINGER et al., 1998). Ainda se incluem neste complexo o *M. caprae*, agente causador da tuberculose em caprinos (ARANAZ et al., 1999 e 2003; ) e o "*M. pinnipedii*", que causa tuberculose em leões marinhos e eventualmente no homem (COUSINS et al.,2003).

A espécie *M. leprae* pertence à classe *Schizomycetes*, também conhecida como bacilo de Hansen (BH) é a causadora do Mal de Hansen ou Lepra. Tem forma de bastonete linear ou levemente encurvado, às vezes em forma de halteres. O BH, como já referido, foi a primeira micobactéria descrita como causadora de doença no homem, nove anos antes de Koch associar o bacilo da tuberculose à ocorrência de doença. É a única micobactéria que perde a capacidade de se corar pela fucsina, quando tratada pela piridina (TIMERMAN, 2004).

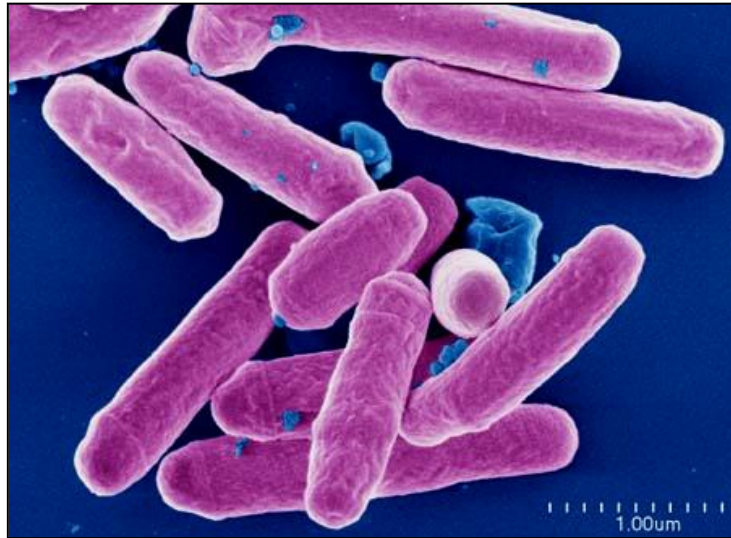
Às MNT, portanto se incluem todas as outras espécies de micobactérias que não pertencem ao complexo *Mycobacterium tuberculosis* nem ao *Mycobacterium leprae* (CHAPMAN, 1967).

Atualmente tem se observado um importante aumento não só no número total de espécies isoladas de micobactérias não tuberculosas, mas também no número de espécies clinicamente significantes. O isolamento em espécimes clínicos não estéreis de espécies de MNT, não é sinônimo de infecção ou doença, pode significar colonização transitória ou simples contaminação. À infecção implica-se uma replicação do microrganismo nos tecidos do hospedeiro e uma síndrome clínica relacionada (doença) (GRANATO, 2003). Essa diferenciação vale a pena ser lembrada visto que as MNT são freqüentemente encontradas na natureza, alguns pesquisadores demonstram inclusive, indícios de que o trato respiratório pode ser colonizado com essas micobactérias, sem que o indivíduo apresente sintomas. Isso ocorre particularmente nos pacientes com doença pulmonar crônica (GOOD et al., 1982).

#### **1.1.2.2 Características**

As MNT são definidas como bactérias aeróbias, álcool-ácido resistentes e não formadoras de esporos, imóveis, levemente curvas, algumas vezes retas, finas medindo em torno de 0,2 a 0,6 micrômetros de largura e 1,0 a 10 micrômetros de comprimento (Fig. 1). Podem replicar-se em condições de escassez de nutrientes e possuem distribuição ubíqua no ambiente, sendo resistentes à cloração da água (BRITO, 2008). A morfologia das colônias varia entre as espécies, apresentando-se de lisas a rugosas, de não pigmentadas a pigmentadas (Figs. 2 e 3) (PFYFFER et al., 2003; BROWN-ELLIOT; WALLACE, 2002; WALLACE, 2005).

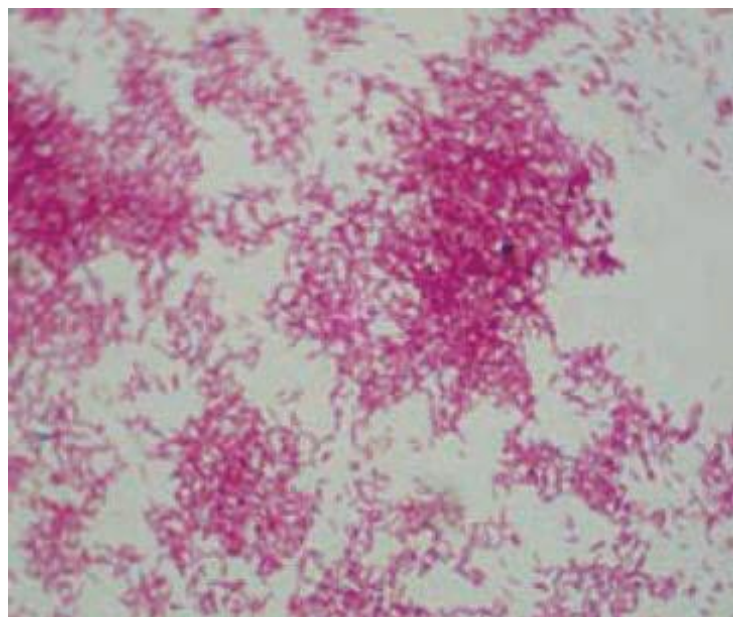
**Figura 1** - Morfologia das micobactérias



Observar a forma curva, às vezes reta dos bacilos.

Fonte: [www.uct.ac.za/depts/mmi/lsteyn/cellwall.html](http://www.uct.ac.za/depts/mmi/lsteyn/cellwall.html) Acesso em 15/04/2010.

**Figura 2** - Esfregaços de cultura de micobactérias corados pela coloração de Ziehl-Nielsen.



Fonte: Gentilmente cedida pela Profa Tereza Bandeira

**Figura 3** - Colônias de micobactérias de crescimento rápido



Colônias de micobactérias pigmentadas e não pigmentadas.

Fonte: [www.uct.ac.za/depts/mmi/lsteyn/cellwall.html](http://www.uct.ac.za/depts/mmi/lsteyn/cellwall.html) Acesso em 15/04/2010.

As MNT são classificadas no gênero *Mycobacterium* com base na sua característica de álcool-ácido resistência e na presença de ácidos micólicos de alto peso molecular em sua parede celular. O DNA das espécies contém alto teor de bases nitrogenadas tipo citosina e guanina (CG) com taxas entre 62 e 70 mol% (RASTOGI et al., 2001). Algumas propriedades específicas do gênero como a álcool-ácido resistência, seu tempo de crescimento, a resistência a detergentes e aos antimicrobianos além de sua capacidade de sobrevivência intracelular em macrófagos são determinadas pelo envelope bacteriano que tem superfície hidrofóbica (BARRY, 2001). O envelope é constituído de uma membrana plasmática aparentemente semelhante à de outras bactérias, circundada por uma complexa parede de lipoarabinomanan e lipooligossacarídeos derivados da manose, proteínas e relativamente pequena quantidade de lipídeos (DAFFÉ; DRAPER, 1998). A membrana plasmática possui uma estrutura básica que não difere à de outras bactérias: lipídios polares, principalmente fosfolipídios agrupados, em associação com proteínas, formando uma bi-camada lipídica (DAFFÉ; DRAPER, 1998). A cápsula é visualizada através de microscopia eletrônica como uma zona eletro-

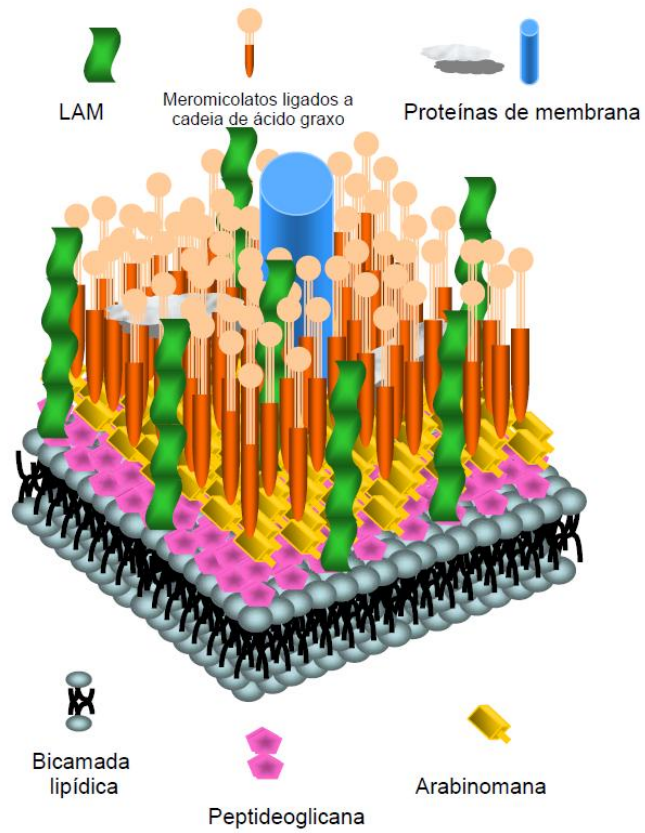


transparente principalmente nas espécies patogênicas, como *M. avium* e está ausente nas não patogênicas, como o *M. smegmatis* (RASTOGI et al., 2001).

A parede celular das micobactérias possui uma conformação singular, diferente da encontrada em outros procariotos. É constituída por quatro camadas que diferem entre si em composição, localização e função (Fig. 4). A camada mais interna é formada por peptidoglicano (mureína) e confere resistência aos microrganismos, formado por ácido N-glicolilmurâmico (BRITO, 2008) enquanto que na maioria das outras bactérias observa-se a presença do o ácido N-acetilmurâmico. A camada seguinte é composta por arabinogalactano, ligado ao peptidoglicano por ligações fosfodiéster. A terceira camada representa cerca de 60% do peso seco da parede celular micobacteriana, formada por ácido micólico. Estes são lipídeos constituídos de cadeias longas de ácidos graxos com 60 a 90 átomos de carbono e conferem resistência à dessecação, permitindo a sobrevivência por períodos prolongados em condições desfavoráveis. A última camada, e mais externa, é composta por diferentes tipos de lipídeos, dentre eles: glicolipídeos, sulfolipídeos, fenolglicolipídeos, peptídeoglicolipídeos e lipoarabinomanano (DAFFÉ; DRAPER, 1998; BRENNAN; DRAPER, 1994). Fig. 5. A complexidade estrutural dos lipídeos confere antigenicidade e resistência destes microrganismos aos agentes físicos e químicos (RASTOGI et al., 2001).



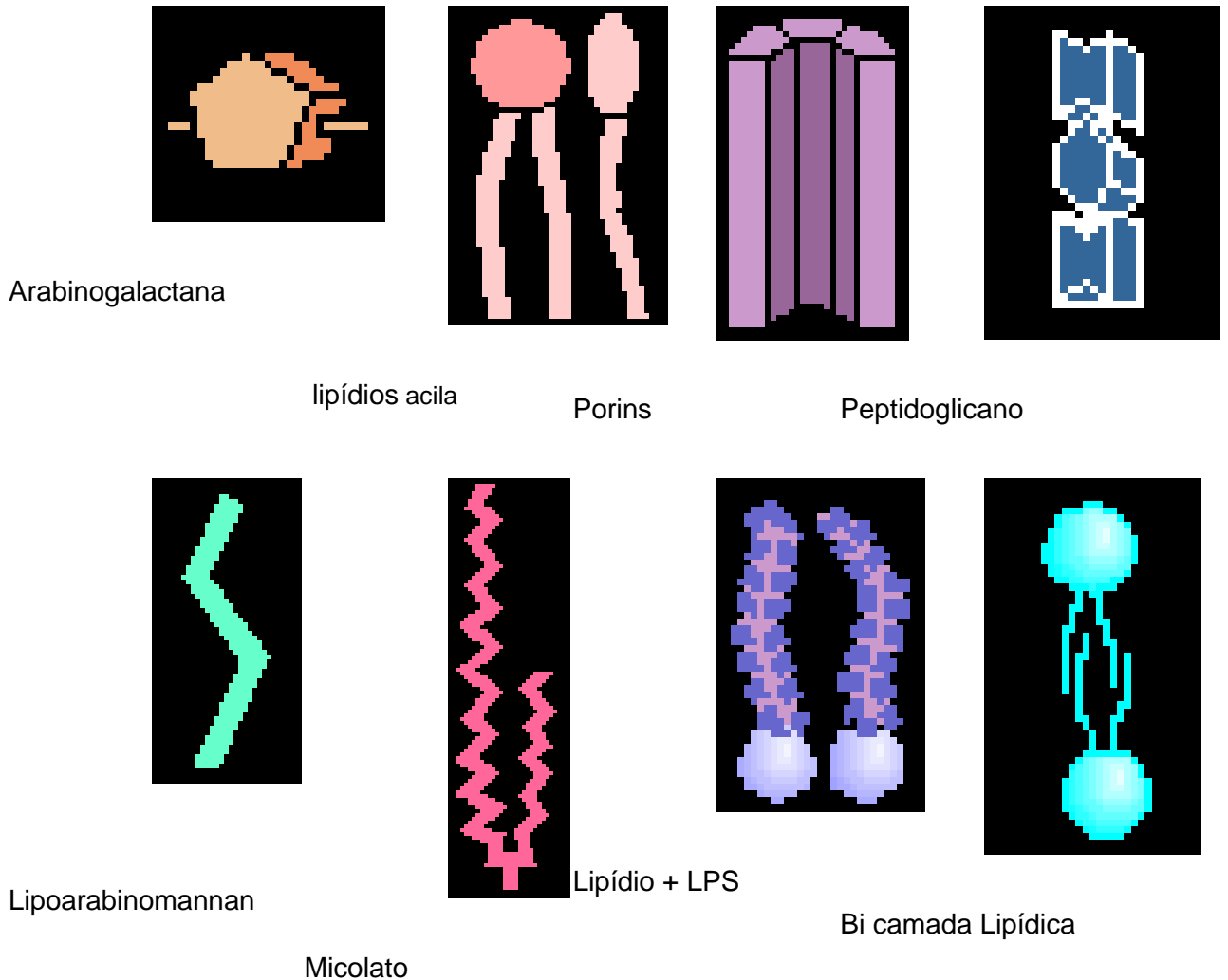
**Figura 4** - Esquema representativo da parede celular da micobactéria



Distribuição das quatro camadas da parede celular da MNT

Fonte: [www.uct.ac.za/depts/mmi/lsteyn/cellwall.html](http://www.uct.ac.za/depts/mmi/lsteyn/cellwall.html) Acesso em 15/04/2010.

**Figura 5** - Representação esquemática dos diversos componentes da parede celular das micobactérias.



Fonte: [www.uct.ac.za/depts/mmi/lsteyn/cellwall.html](http://www.uct.ac.za/depts/mmi/lsteyn/cellwall.html) Acesso em 15/04/2010.

Tem sido descrito que vários constituintes da parede celular, como os ácidos micólicos, lipoproteínas e arabinogalactanos, são intensamente antigênicos e são primordiais para a patogenicidade do *M. tuberculosis*, componentes também presentes em algumas MNT (RASTOGI et al., 2001; LEGRAND; SOLA, 2001; DUBNAU et al., 2000; DAFFÉ; DRAPER, 1998).

Os ácidos micólicos são ácidos graxos alfa-alkil beta-hidroxi de cadeias longas e de alto peso molecular, produzidas por todas as micobactérias, constituindo 40-60% do peso do envelope bacteriano (DUBNAU et al., 2000). Esses ácidos micólicos juntos com os lipídios livres conferem à parede celular uma barreira de permeabilidade hidrofóbica (BRENNAN; DRAPER, 1994; DRAPPER et al., 1994).

### 1.1.2.3 Classificação

A classificação das MNT pode ser realizada com base em características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas das micobactérias, mas também enriquecida por evidências antigênicas e informações genômicas, obtidas com técnicas de biologia molecular. A classificação proposta por Timpe e Runyon em 1954 e revisada pelo próprio Runyon em 1959, divide as MNT em quatro grupos baseada na pigmentação e tempo de crescimento das colônias. As espécies que apresentam crescimento em meio sólido após sete dias são classificadas como de crescimento lento e aquelas que apresentam crescimento em menos de sete dias, de crescimento rápido (Quadro 1). (TIMPE; RUNYON, 1954; RUNYON, 1959; COLLINS; GRANJE; YATES, 1997).

**Quadro 1-** Classificação das MNT de acordo com o tempo de crescimento e produção de pigmento (Runyon; Tímpe, 1959; Runyon, 1975).

| Grupos    | Pigmentação                   | Tempo de crescimento |
|-----------|-------------------------------|----------------------|
| Grupo I   | Fotocromógenas                | Lento                |
| Grupo II  | Escotocromógenas              | Lento                |
| Grupo III | Acromógenas                   | Lento                |
| Grupo IV  | Produtoras ou não de pigmento | Rápido               |

Fonte: SÃO PAULO, 2005.

As micobactérias fotocromogênicas se caracterizam por produção de pigmento na presença de luz (*M. kansasii* e *M. marinum*); as escotocromogênicas produzem pigmento independente da presença de luz (*M. scrofulaceum*); e as não-cromogênicas não produzem pigmento (*M. avium*); essas últimas apresentam características similares ao complexo *M. tuberculosis*. As micobactérias do grupo IV podem apresentar ou não pigmento (*M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*). O *M. abscessus*, *M. fortuitum* e *M. chelonae* são apontadas como as micobactérias de crescimento rápido (MCR) mais freqüentemente envolvidas em infecções de pele e tecidos moles. Essas três espécies foram associadas a infecções em serviços de saúde, incluindo cateteres intravenosos e peritoneais de longa permanência, abscessos após injeções, infecções em sítio cirúrgico, feridas após operações cardíacas, mastoplastias e oculares (CORBETT et al., 1999; GRIFFITY et al., 1993; NEWMAN et al., 2005).

Duas outras características das micobactérias de crescimento rápido são relevantes, a prevalência em diferentes substratos ambientais, com crescimento de colônias na presença de diversos tipos de poluentes e a resistência a produtos frequentemente empregados nos procedimentos de limpeza e desinfecção em serviços de saúde (WILDNER et al., 2011; WOLINSKY et al., 1966; FALKINHAM III, 2002, 2009).

As micobactérias de crescimento rápido são amplamente disseminadas, podendo ser encontradas em solo, poeira, pedras, bioaerossóis e água, mesmo em condições supostamente adversas, como baixo pH, pouca carga orgânica e temperaturas variadas. Dadas suas características hidrofóbicas, estão presentes em zonas de transição de coleções de água, ou seja, na superfície e em biofilmes, inclusive em canos de água. Encontram condições favoráveis em reservatórios e encanamento de hospitais, sendo difícil erradicá-las (DE GROOTE; HUITT, 2006).

A principal crítica que pode se fazer a essa classificação é a de que se encontram incluídas em um mesmo grupo bactérias reconhecidamente patogênicas aos seres humanos ao lado de outras sabidamente não patogênicas. É ainda considerada por alguns pesquisadores, uma classificação complexa e não facilmente aplicável à clínica (WILDNER et al., 2011).

Davidson em 1989 apresentou um estudo no qual as micobactérias são classificadas, conforme a sua capacidade de causar doença no homem. Essa classificação foi inspirada nos estudos de Kazda, que dividiu as micobactérias em três grupos conforme o grau de patogenicidade em seres humanos: estritamente patogênicas (*CMBT*, *M. leprae*), potencialmente patogênicas e raramente patogênicas (MNT). As MNT presentes no meio ambiente podem colonizar um hospedeiro e determinar ou não o aparecimento de infecção ou doença. Para Davidson, uma série de fatores, em conjunto podem dar suporte, ao diagnóstico de doença em maior ou menor grau (DAVIDSON, 1989). Quadro 2.

### **Quadro 2. Fatores para estabelecer o diagnóstico de doença por MNT.**

#### **Fatores Fortes:**

- Síndrome clínica compatível com MNT. Micobactéria isolada repetidamente em grande quantidade em cultura de material de fonte não estéril, não associada a nenhum outro patógeno identificado.
- Piora clínica de paciente durante o tratamento para tuberculose.
- MNT isolada de espécime biológico em paciente com AIDS.

#### **Fatores de Apoio:**

- MNT isolada de baciloscopia positiva
- MNT não eliminada ou significativamente reduzida por um longo período após a higiene brônquica diária e vigorosa.
- MNT persistentemente isolada de escarro em paciente com doença pulmonar associada (DPOC, Bronquiectasia, Fibrose Cística, etc.).
- MNT consistentemente isolada de escarro, mas, em pequeno número.
- Doença pulmonar cavitária em paciente com doença pulmonar associada sem risco conhecido para TB.
- Baciloscopia positiva com cultura negativa em paciente com Aids.

#### **Fatores Fracos:**

- Teste tuberculino negativo
- Isolamento único de MNT no escarro
- Condição pulmonar associada
- Baciloscopia positiva em paciente com AIDS
- Infecção com HIV

A presença de um ou 2 fatores fortes podem decidir pelo diagnóstico da doença, enquanto que vários fatores fracos são necessários para aumentar a chance de estabelecer o diagnóstico correto.

No presente estudo optou-se por adotar a Classificação das espécies de MNT de acordo com a sua capacidade de causar doença, conforme a proposição de Davidson (DAVIDSON, 1989). foi utilizada a classificação conforme o grau de patogenicidade das cepas, tendo como base a maior ou menor capacidade de gerar doença. Essa classificação apesar de ser pouco explorada pelos pesquisadores encaixou perfeitamente dentro dos objetivos do estudo, que por se propor a analisar as características clínicas e epidemiológicas de pacientes em tratamento em ambulatório especializado no atendimento de pacientes com TB, TBMR e doença por MNT em hospital terciário, no estado do Ceará, tinha como pressuposto que estudar pacientes com a doença por MNT já diagnosticada.

**Quadro 2. Classificação das espécies de MNT de acordo com a patogenicidade**  
**Rever a numeração dos quadros. Na pag. Anterior já tem Quadro 2**

| MNT POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS   | MNT RARAMENTE PATOGÊNICAS |
|----------------------------------|---------------------------|
| M. abscessus                     | M. agri                   |
| M. asiaticum                     | M. aurum                  |
| M. avium                         | M. branderi               |
| M. avium subsp. Paratuberculosis | M. chitae                 |
| M. celatum                       | M. M. duvalli             |
| M. chelonae                      | M. gallax                 |
| M. fortuitum                     | M. flavescens             |
| M. genavense                     | M. gastri                 |
| M. haemophilum                   | M. gordonae               |
| M. immunogenicum                 | M. hassiacum              |
| M. intracellulare                | M. mageritense            |
| M. kansasii                      | M. neoaurum               |
| M. lentiflavum                   | M. nonchromogenicum       |
| M. malmoense                     | M. phlei                  |
| M. marinum                       | M. porcinum               |
| M. mucogenicum                   | M. pulveris               |
| M. peregrinum                    | M. smegmatis              |
| M. scrofulaceum                  | M. terrae                 |
| M. schimoidei                    | M. triviale               |
| M. simiae                        | M. vaccae                 |
| M. szulgai                       |                           |
| M. ulcerans                      |                           |
| M. xenopi                        |                           |

Fonte: Leão et al., 2004.

As micobactérias não tuberculosas potencialmente patogênicas podem causar uma variedade de formas de comprometimento em seres humanos e

animais, as quais podem variar de uma forma restrita a determinado sítio ou disseminada, como acontece em pacientes imunocomprometidos. Esta classificação pode compreender espécies de MNT de diferentes velocidades de crescimento em um mesmo grupo, independente da forma de comprometimento da doença, quer seja na doença disseminada como em pacientes imunocomprometidos cujos quadros vêm geralmente associados a espécies de crescimento lento (BARRETO; CAMPOS, 2000; ATS, 1997) quer seja em sítio isolado com as doenças associadas às lesões por trauma associadas a espécies de crescimento rápido (FREITAS et al., 2003; WINTHROP et al., 2003).

Essa classificação apesar de pouco utilizada nos estudos em MNT foi respaldada pelo grupo de Trabalho Internacional em Taxonomia das Micobactérias (IWGNT). A Secretaria Estadual da Saúde de São Paulo em 2005 publicou documento coordenado por profissionais do Instituto Adolfo Lutz e do Centro de Vigilância Epidemiológica Prof. Alexanfre Vranjakc, no qual apresentou as espécies de MNT potencialmente patogênicas mais frequentemente isoladas no estado: Complexo *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. chelonae*, *M. abscessus*, *M. fortuitum*, *M. perigrinum*; sendo raramente isoladas: *M. marinum*, *M. xenopi*, *M. scrofulaceum*, *M. malmoense*, *M. szulgai*, *M. simiae*, *M. asiaticum*, *M. lentiflavum*, *M. genavense* (SÃO PAULO, 2005; CHIMARA, 2005; UEKI et al., 2005). A espécie de MNT raramente patogênica mais frequentemente isolada foi o *M. gordonae*, e as raramente isoladas representadas pelas espécies *M. triviale*, *M. nonchromogenicum*, *M. neoaurum* (CHIMARA, 2005; UEKI et al., 2004).

O próprio Instituto Adolfo Lutz adota uma classificação própria, quando da liberação dos resultados de exames de identificação de MNT, baseada na patogenicidade, origem e número de espécimes dos quais foram isoladas a mesma espécie de MNT (SÃO PAULO, 2005). Dessa forma, cada resultado contempla uma classificação quanto ao possível significado clínico do isolamento:

1. Isolamento sugestivo de doença – quando a espécie potencialmente patogênica identificada se origina de um espécime clínico coletado de sítio estéril ou



quando se têm no mínimo três isolamentos da mesma espécie de sítios não estéreis.

2. Isolamento potencialmente sugestivo de doença – quando a espécie potencialmente patogênica identificada é isolada de um ou dois espécimes clínicos não estéreis.

3. Isolamento raramente sugestivo de doença – quando a espécie raramente patogênica identificada é isolada de um ou dois espécimes clínicos não estéreis.

No presente estudo optou-se por adotar a Classificação das espécies de MNT de acordo com a sua capacidade de causar doença, conforme a proposição de Davidson (DAVIDSON, 1989). A principal justificativa para a escolha foi baseada no principal objetivo do estudo, o qual retratou o interesse de estudar indivíduos já em tratamento e acompanhados em ambulatório especializado, portanto, pacientes já com diagnóstico da doença por MNT.

### **1.1.2.3 Identificação da MNT**

A heterogeneidade do gênero *Mycobacterium* em termos de metabolismo, crescimento, ambiente, epidemiologia, patogenia, distribuição geográfica e associação à doença confere uma importância singular a esses microorganismos, gerando dificuldades na identificação precisa da espécie causadora da infecção (WAYNE, 1986; TORTOLI et al., 1998; KASAI et al., 2000).

A identificação da micobactéria em nível de espécie é crucial, já que fornece uma grande quantidade de informações úteis sobre a epidemiologia, e facilita a escolha do esquema para o tratamento dos pacientes (FIELD et al., 2006).

Na história dos estudos dos seres procarióticos, dois grandes períodos podem ser identificados: o primeiro refere-se à era em que os estudos fenotípicos prevaleciam, e o segundo, bem mais recente, refere-se à época da ênfase aos

estudos genéticos dos microrganismos. O primeiro período data do final dos anos 80 do século XIX até o fim da década de 80 do século XX e o segundo período iniciou-se na última década do século XX e persiste até a atualidade (TORTOLI et al., 2003).

Os métodos de identificação e diagnóstico dos microrganismos têm avançado amplamente desde 1884, quando Robert Koch, desenvolveu protocolos para cultivo e posterior estudo de diversos patógenos (KOCH, 1932).

Os métodos tradicionais na investigação de doenças infecciosas incluem técnicas de cultura, testes sorológicos e ensaios bioquímicos. A cultura para micobactérias deve ser realizada em meios seletivos e não seletivos. As formulações seletivas mais utilizadas são Löwenstein-Jensen e Middlebrook. A técnica de identificação por testes bioquímicos permite fazer a distinção entre uma e outra espécie bacteriana com base na capacidade do microrganismo metabolizar ou não determinado substrato para atender às suas necessidades fisiológicas. Os testes bioquímicos para a identificação de micobactérias são: presença ou ausência de algumas enzimas como a urease, arilsulfatase e catalase, e características específicas de cada enzima, como a termo-resistência da catalase (RASTOGI, 2001).

O método Wayne, outro método bioquímico, é utilizado, para identificar as micobactérias que têm a capacidade de hidrolisar a uréia. Enquanto que o teste da enzima arilsulfatase consiste em verificar se as micobactérias, em diferentes condições, produzem a enzima. A enzima catalase separa o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, e o oxigênio aparece na forma de bolhas. Quase todas as micobactérias produzem catalase, o que vai mudar é a quantidade de catalase produzida ou a perda ou não da capacidade de produzir catalase a 68°C (WAYNE et al., 1968, 1969; WAYNE, 1986)

Na maioria dos laboratórios, a identificação de espécies é baseada no crescimento *in vitro* e em atividades metabólicas, como tempo de crescimento, produção ou não de pigmentos, provas bioquímicas, crescimento ou não na

presença de inibidores químicos, etc (DAWSON; JENNIS, 1980). Tais testes fenotípicos são conhecidos como métodos convencionais. As principais limitações desses testes consistem na demora para obtenção dos resultados e dificuldade de diferenciação de diversas espécies, além de trabalhosos. Além disso, para muitas espécies de MNT, os ensaios podem ser poucos reprodutíveis (COLLINS et al., 1987; SILVA et al., 2001) e, conseqüentemente, as identificações podem ser ambíguas ou errôneas (SPRINGER et al., 1996). Estudos recentes na literatura têm mostrado infecções envolvendo dois ou mais espécies de MNT, ou mesmo dois diferentes isolados de uma mesma espécie de MNT, enfatizando a importância no cuidado do exame dos espécimes (ROTH et al., 2000; ALBELDA et al., ano).

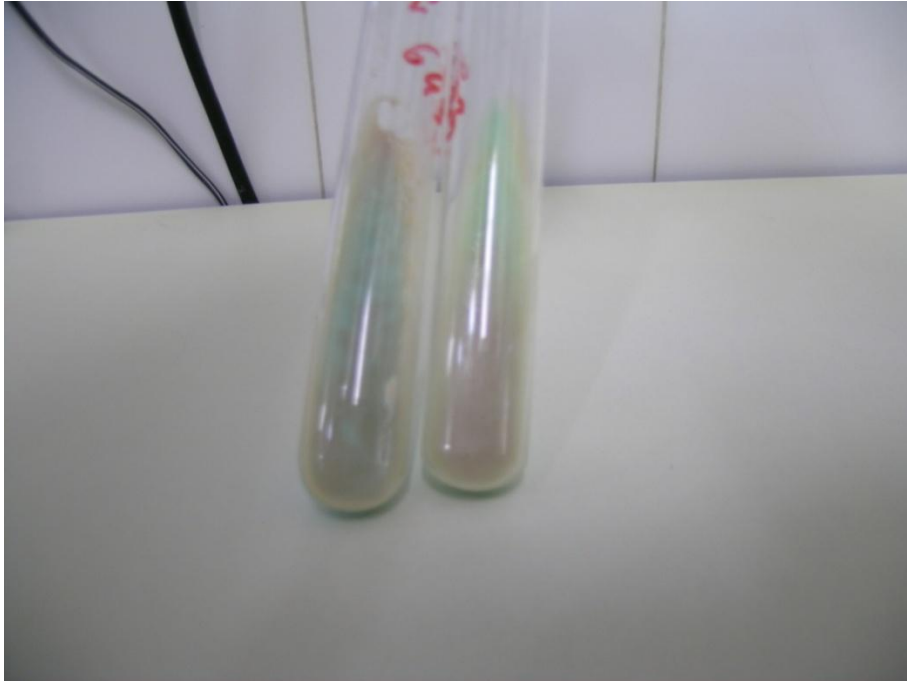
A evidência de que as MNT, organismos ambientais, normalmente agindo como patógenos oportunistas, eram responsáveis pelo aumento na incidência e da prevalência de infecções nos diversos países em todos os continentes, fez crescer a preocupação com a necessidade de desenvolvimento de métodos eficazes e rápidos para a detecção e diferenciação das micobactérias (SANDERS et al., 1995; WAYNE et al., 1968; WALLACE et al., 1990; ARANAZ et al., 1999). Métodos esses que contribuíssem na promoção e ampliação do conhecimento clínico epidemiológico, as bases para o tratamento e a prevenção adequada da doença pulmonar por MNT. Assim atualmente somaram-se aos métodos convencionais, novos testes que permitiram uma análise mais rápida, na grande maioria das vezes mais precisa na identificação da espécie de MNT infectante, embora com limitações logísticas e de pessoal especializado. São os testes moleculares (TORTOLI, 2003).

#### **1.1.2.3.1 Identificação fenotípica**

Na identificação fenotípica as espécies de micobactérias são tradicionalmente diferenciadas com base na velocidade de crescimento, temperatura de crescimento ideal, morfologia das colônias, produção de pigmentos e crescimento na presença de niacina e sorotipagem. Outras características de crescimento, porém, são úteis para a determinação da espécie, como a habilidade de algumas espécies de crescer em meios outros que não o Lowenstein-Jensen (LJ), ou a habilidade de crescer na presença de inibidores como o ácido *p*-nitrobenzoato (PNB) e hidrazida do ácido tiofeno 2-carboxílico (TCH). Ademais, propriedades bioquímicas específicas são úteis para a discriminação entre as espécies, como, por exemplo, a presença ou a ausência de algumas enzimas como a urease, arilsulfatase e catalase e/ou as características específicas de cada enzima, como a termo-resistência da catalase (VINCENT et al., 2003; RASTOGI et al., 2001).

Embora em muitos dos testes laboratoriais tradicionais e convencionais para avaliação de micobactérias, a taxa de crescimento não seja rotineiramente utilizada, este parâmetro ainda é útil para uma análise preliminar, na classificação de uma micobactéria não tuberculosa. A habilidade das micobactérias em crescer na presença de substâncias inibitórias em um meio adequado, é bastante utilizada na identificação de diferentes espécies. O ácido *p*-nitrobenzóico (PNB) na concentração de 500 µg/ml em meio de cultura a base de ovo, é utilizado como agente inibidor do crescimento de amostras pertencentes ao complexo *M. tuberculosis* (TSUKAMURA, 1991; FONSECA; GONTIJO, 1978). Enquanto que as MNT são resistentes a esta concentração (GIAMPAGLIA et al., 2007). Fig. 6.

**Figura 6. Cultura de MNT em meio inibitório com PNB.**



*M. abscessus* em meio Lowenstein-Jensen sem PNB à esquerda e com PNB à direita. Notar que o microrganismo se desenvolve normalmente.

Fonte: Gentilmente cedido pela Profa Cristiane Frota. Laboratório de micobactéria/UFC.

#### 1.1.2.3.2 Sistema Bactec 460TB

O BACTEC 460TB é um equipamento semi-automático para isolamento primário, importante na diferenciação entre complexo *M. tuberculosis* e *Micobactérias não tuberculosas* e nos testes de sensibilidade a drogas antituberculose. O método é baseado na detecção de CO<sub>2</sub> liberado pelo metabolismo micobacteriano, a partir do ácido palmítico durante o seu crescimento em meio líquido de Middlebrook (JOST et al., 1995). Este sistema de detecção possibilita resultados de crescimento mais rápidos que os métodos convencionais. Também é relatada atividade inibitória similar do PNB a p-nitro-*o*-acetilamine-*o*-hidroxipropiofenona (NAP) em meio líquido Middlebrook 7H11 (REISNER et al., 1994). Atualmente o NAP é a alternativa oferecida pelos fabricantes do sistema semi-automatizado BACTEC 460 TB como agente inibidor para identificação do complexo *M. tuberculosis*. Estudos demonstraram que o crescimento micobacteriano

em meio contendo PNB pode ser usado como um teste presuntivo para MNT (GIAMPAGLIA et al., 2007).

#### **1.1.2.3.3 Análise de Ácidos Micólicos**

Os ácidos micólicos são ácidos graxos  $\beta$ -hidroxi com uma longa cadeia na posição *alfa* e são os principais componentes do notável conteúdo lipídico da parede celular das micobacterias (BUTLER; GUTHERTZ, 2001). Eles diferem no número de átomos de carbonos, que variam de 60 a 90 átomos, e pela presença de diferentes grupos funcionais. Os padrões de ácidos micólicos da parede celular geralmente variam entre as espécies. Assim, a análise dos ácidos micólicos é útil na identificação das micobactérias. Três métodos diretos são usados para análise dos ácidos micólicos: cromatografia de fina (TLC), cromatografia líquida de alta performance (HPLC) e cromatografia gás-líquido (GLC) (TORTOLI, 2003; BUTLER; THIBERT; KILBURN, 1992).

O método de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) tem sido reconhecido como um método prático, rápido e confiável para a identificação de muitas espécies de MNT de crescimento lento. A técnica também pode ser utilizada na análise direta da cultura primária de micobactérias que crescem em meio BACTEC7H12B (Becton Dickinson) e na identificação do *MAC* diretamente de amostras com resultados de baciloscopia positiva (JOST et al., 1995). No entanto, o método HPLC tem limitações como o reconhecimento de algumas espécies mais recentes e a distinção de espécies dentro do complexo *M. simiae*. Também tem sido relatado que algumas espécies do grupo *M. fortuitum* e do *M. smegmatis* são difíceis de serem separadas, da mesma forma a distinção entre *M. abscessus* e *M. chelonae* pode não ser possível pelo HPLC (BUTLER; THIBERT; KILBURN, 1992; BUTLER; GUTHERTZ, 2001).

#### **1.1.2.3.4 Identificação Genotípica ou Métodos Moleculares**

Os estudos moleculares envolvendo micobactérias começaram na década de 1980 e se caracterizam por serem técnicas relativamente mais rápidas e de maior acurácia. Além disso oferecem uma resposta específica e rentável, quando comparada aos outros meios para identificação de espécies de micobactérias (TAKEWAKI et al., 1994). Entre as técnicas utilizadas para a identificação das espécies descreve-se as que empregam sondas genéticas (Sistema *AccuProbe*, por exemplo), sequenciamento de DNA a partir de produtos de PCR, análises com enzima de restrição (PRA-*hsp65*) e o HMA (*Heteroduplex Mobility Assay* – Ensaio de mobilidade eletroforética de fitas heteroduplas) (MOKADDAS, 2007; KATOCH, 2004; HALL et al., 2003).

#### a) Hibridização com Sondas de DNA

Esse método baseia-se na utilização de sondas de DNA específicas para cada espécie de micobactéria. O INNO-LiPA Mycobacteria (Innogenetics NV, Gent, Bélgica) baseia-se na técnica de hibridização reversa na qual a sonda é representada por um amplicon 400-550 pb do ITS 16S-23S rRNA, o conjunto inclui sondas específicas para várias espécies de micobactérias (LEÃO et al., 2004). Na técnica de hibridização de RNAr, sondas de DNA comercialmente disponíveis, hibridizam-se com RNAs ribossomais da micobactéria. Os amplicons de RNA gerados são detectados com sondas de DNA marcadas com acridinium éster. Algumas sondas de DNA estão comercialmente disponíveis, todas apresentando vantagens e restrições à metodologia empregada. A *AccuProbe*® (GenProbe Inc., San Diego, Calif) é um conjunto com uma sonda de DNA baseado na detecção de rRNA específico de MTBC, *MAC*, *M. kansasii* e *M. gordonae*. Alguns exemplos de sondas moleculares disponíveis: Acridium ester-labeled DNA probes specific for *MAC* (or separately for *M. avium* and *M.intracellulare*), *M. kansasii*, and *M. gordonae* aprovadas pelo U.S. Food and Drug Administration (FDA) e são atualmente usadas em muitas laboratórios clínicos. O método é simples, rápido e comercializado em kits de identificação; porém, as sondas não estão disponíveis para todas as espécies

de micobactérias patogênicas, e os reagentes são caros (GONZALEZ et al., 1987; MUSIAL et al., 1988).

## **b) Sequenciamento de DNA**

A disponibilidade de tecnologias de seqüenciamento de DNA constituiu um grande avanço para a identificação de micobactérias. A identificação de “assinaturas” espécie-específicas dentro das regiões variáveis de genes altamente conservados permitiu o desenho de protocolos simples baseados em ampliações seguidos de seqüenciamento do produto em estudo. O polimorfismo de vários genes conservados tem sido investigado para a identificação de micobactérias: o gene “*dnaJ*” (TAKEWAKI et al., 1994; ZHANG et al., 1997), o gene “*sod*” que codifica a superóxido dismutase (ZOLG et al., 1994; KIM, 1999; DEVALLOIS et al., 2006), o gene “*gyrB*” codificante da girase subunidade B (KASAI et al., 2000), o “*rpoB*” codificante da RNA polimerase (KIM et al., 1999) e a seqüência ITS 16S-23S (PARK et al., 2000). No entanto, os alvos mais amplamente usados são o gene “*hsp65*” e o “16S *Rdna*” (RINGUET et al., 1999; ROGALL et al., 1990; TANAKA et al., 1995).

O seqüenciamento do gene 16S rRNA é uma poderosa técnica de diferenciação das espécies, no entanto, é trabalhosa e cara. O rRNA 16S constitui seqüência de uma cerca 1.500 nucleotídeos codificados pelo DNA ribossomal 16S (rDNA), que é um gene cuja característica é a sua alta capacidade de manter-se conservado, com regiões comum a todos os organismos (regiões conservadas) e também áreas onde os nucleotídeos apresentam variações (regiões variáveis). Para fins de identificação de micobactérias, a análise da seqüência enfoca duas seqüências hipervariáveis, conhecidas como as regiões A e B. A seqüência da região A é geralmente suficiente para identificar a maioria das espécies de MNT, porém sempre se realiza o seqüenciamento da região B, pois ele pode ser necessário em alguns momentos, especialmente na identificação de espécies ainda não descritas ou as espécies que não podem ser diferenciados pela seqüência de uma só região (ATS 2007; PATEL et al., 2000).

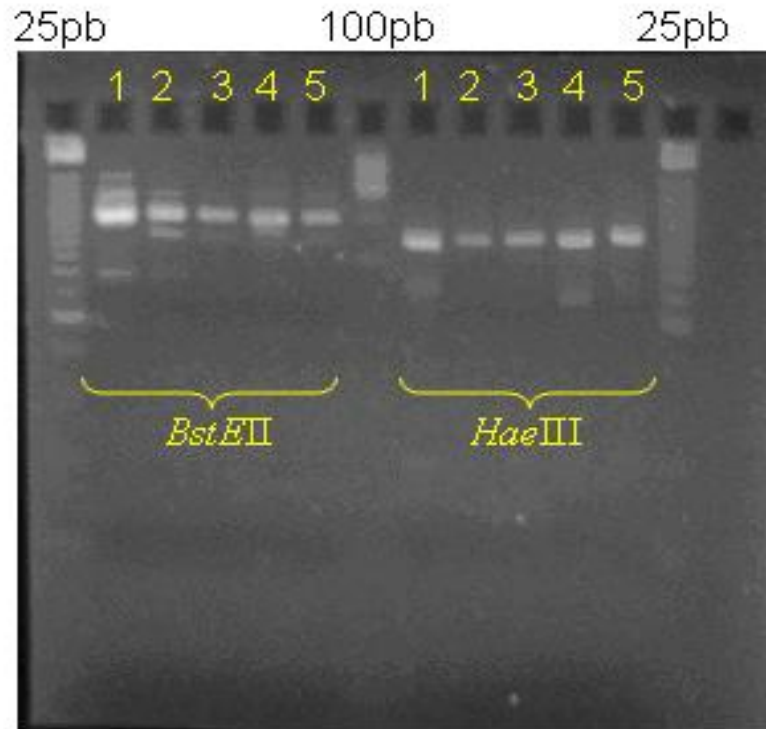


Uma das dificuldades com este método são que as espécies de divergência recentes podem conter muitas sequências semelhantes de genes 16S rRNA. Por exemplo, a diferença entre *M. szulgai* e *M. malmoense* são apenas dois nucleotídeos, embora se saiba que tratam-se de espécies distintas. Além disso, nenhuma seqüência de nucleotídeos entre espécies é de valor para definir inequivocamente diferentes espécies de micobactérias (VINCENT et al., 2003). Outra limitação é que o banco de dados “ MicroSeq” tem apenas uma entrada para cada espécie (HALL et al., 2003). Isto é particularmente problemático quando o espécime que se deseja isolar não tem uma correspondência exata nas bases de dados.

### **c) PCR e Análise com Endonucleases de Restrição**

Essa técnica foi descrita por Telenti e colaboradores em 1993, o qual denominaram método PRA *hsp65*. Este método baseia-se na amplificação, pela reação em cadeia da polimerase (PCR), de um fragmento de 439 pares de base (pb) do gene *Heat Shock Protein* de 65 kDa (*hps65*), que contém epítomos específicos comuns a várias espécies de micobactérias, seguido por digestão enzimática com duas endonucleases de restrição, *BstEII* e *HaeIII* (TELENTI et al., 1993b), posteriormente separados por eletroforese em gel de agarose (fig. 7), aparecendo como bandas cujos padrões são usualmente espécies específicos. Esta técnica necessita apenas da PCR de rotina e equipamentos de eletroforese em gel de agarose e pode ser concluída dentro de poucas horas (PARK et al., 2000). As diferentes espécies de micobactérias rendem padrões muito diferentes de fragmentos de restrição e a definição da espécie é possível comparando-se esses padrões com um algoritmo em banco de dados publicadas de isolados clínicos (TELENTI et al., 1993b). A disponibilidade de um recurso de internet on-line facilita o processo (PRAsite) (Figura 8). Esse método diferencia a maioria das espécies de MNT (WANG et al., 2005).

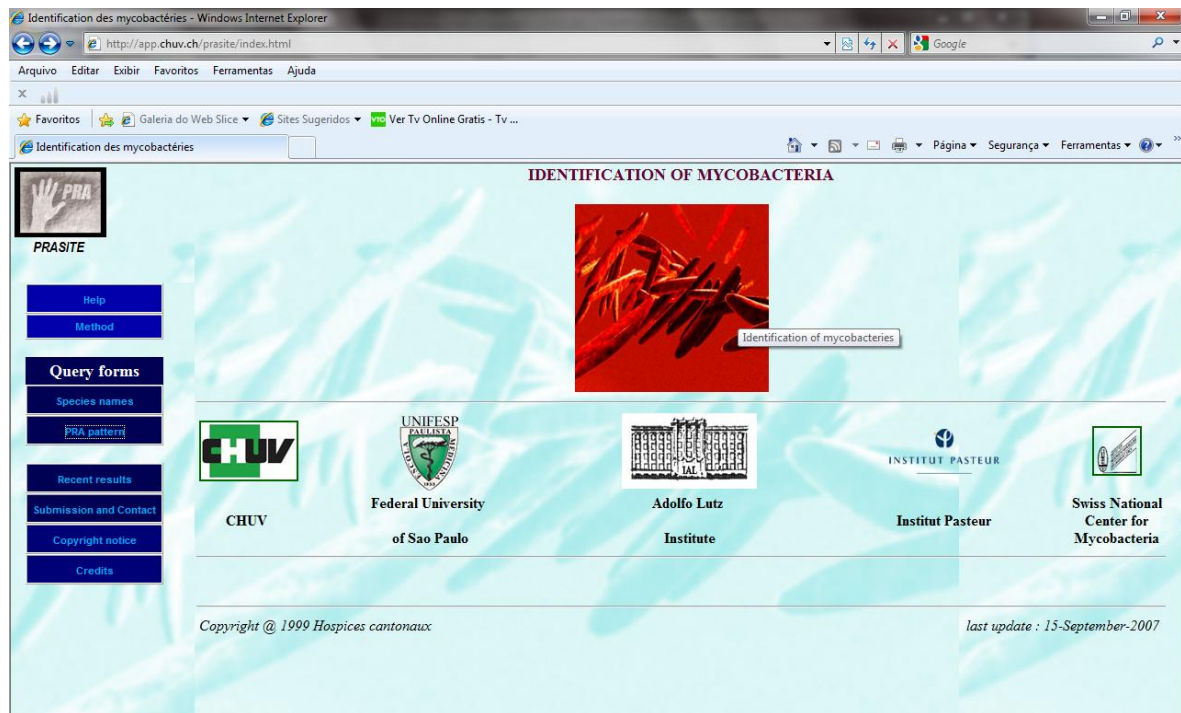
Figura 7. Eletroforese em gel de agarose UltraPure™ Agarose-1000 4%, mostrando o padrão das bandas que caracterizam diferentes espécies de *Mycobacterium* sp.



Amostras digeridas com as enzimas *HaeIII* e *BstEII*. Poços 1, 2 e 3 - *M. shimodei*.  
Poços 4 e 5 - *M. avium*.

Fonte: Laboratório de micobacteria/UFC. Gentilmente cedido pela Prof<sup>a</sup> Cristiane Frota.

Figura 8. PRASITE



Fonte: <http://app.chuv.ch/prasite/index.html>

O gene *hsp65* que codifica a proteína de 65 kDa está presente em todas as espécies de micobactérias e contém regiões, algumas vezes únicas e outras vezes hipervariáveis, comuns a várias espécies de micobactérias cujas seqüências podem ser usadas para fins de identificação (RINGUET et al., 1999). Fig. 9. O *M. tuberculosis* é facilmente diferenciado das MNT pelas características de suas bandas na digestão enzimática com a *HaeIII*. Entretanto, os demais membros do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) não são discriminados pelo PRA, já a maioria das MNT é reconhecida por este método (VINCENT et al., 2003). Outros alvos genômicos têm sido usados para o PRA. Eles incluem o gene *rpoB* que é responsável pela resistência à rifampicina, o gene *dnaJ* e o ITS (Internal Transcribed Spacer) 16S-23S rRNA (PARK et al., 2000; KIM et al., 1999; TAKEWAKI et al., 1994; STEINGRUBE et al., 1995).

**Figura 9. Localização de Iniciadores Tb11 e Tb12 (mostrados em negrito) no gene Rv0440 ou *hsp65* do *M. tuberculosis*.**

```
>M. tuberculosis H37Rv|Rv0440|groEL2: 1623 bp - 60 KDA CHAPERONIN 2
GROEL2 (PROTEIN CPN60-2) (GROEL PROTEIN 2) (65 KDA ANTIGEN) (HEAT
SHOCK PROTEIN 65) (CELL WALL PROTEIN A) (ANTIGEN A)
atggccaagacaattgcgtacgacgaagaggcccgctcgagcgggcttgaac
gccctcgccgatgcccgtaaaggtgacattgggcccccaagggccgcaacgctcgtcctggaa
aagaagtggggtgccccacgataACCAACGATGGTGTGTCCATcgccaaggagatcgag
ctggaggatccgtacgagaagatcggcgccgagctgggtcaaagaggtagccaagaagacc
gatgacgctgcccgggtgacggcaccacgacggccaccgctgctggcccaggcgttggttcgc
gagggcctgcgcaacgctcgccggccggcgccaaccgctcggtctcaaacgcccgatcgaa
aaggccgtggagaaggtcaccgagaccctgctcaagggcgccaaggaggtcgagaccaag
gagcagattgcccaccgcagcgatttcggcgggtgaccagtcctcggtgacctgatc
gccgagggcgatggacaaggtgggcaacgagggcgctcatcaccgctcgaggagtccaacacc
tttgggctgcagctcgagctcaccgAGGGTATCGGGTCGACAAGggctacatctcgggg
tacttcgtgaccgaccggagcgtcaggaggcggctcctggaggaccctacatcctgctg
gtcagctccaaggtgtccactgtcaaggatctgctgcccgtgctcgagaaggtcatcgga
gccggtaagccgctgctgatcctcgccgaggacgtcgagggcgagggcgtgtccaccctg
gtcgtcaacaagatccgcccgcacctcaagtcgggggggtcaaggctcccggctcggc
gaccgcccgaaggcgatgctgcaggatagggccattctcaccgggtggtcaggtgatcagc
gaagaggtcggcctgacgctggagaacgccgacctgtcgctgctaggaaggcccgaag
gtcgtggtcaccaaggacgagaccaccatcgtcgagggcgccgggtgacaccgacgccatc
gccggacgagtgcccagatccgccaggagatcgagaacagcgactccgactacgaccgt
gagaagctgcaggagcggctggccaagctggccgggtggtgtcgccgggtgatcaaggccgg
gcccccaccgaggtcgaactcaaggagcgcgaagcaccgcatcgaggatgcggttcgcaat
gccaaggccgcccgtcgaggagggcctcgtcgccgggtgggggtgtgacgctgttgcaagcg
gccccgaccctggacgagctgaagctcgaaggcgacgagggcgaccggcgccaacatcgtg
aaggtggcgtggaggccccgctgaagcagatcgccctcaactccgggctggagccgggc
gtggtggccgagaaggtgcgcaacctgccggctggccaccgactgaacgctcagaccgggt
gtctacgaggatctgctcgctgcccggcgttgcctgaccgggtcaagggtgaccctcggcg
ctgcagaatcggcgctccatcgccggggctgttccctgaccaccgagggccgctcgttgccgac
aagccggaaaaggagaaggcttccgctcccgggtggcggcgacatgggtggcatggatttc
tga
```

Fonte: <http://genolist.pasteur.fr/TubercuList/>

Alguns estudos têm demonstrado limitações para o PRA-hsp65. Primeiro, dentro das espécies comumente encontradas de significado clínico, tais como *Mycobacterium avium* e *Mycobacterium kansasii*, até seis padrões distintos PRAhsp65 foram encontrados (CHIMARA et al., 2004, 2008; VIANA NIERO et al., 2008). Tal variabilidade pode resultar em uma alta frequência de padrões ambíguos ou não interpretável. Segundo, as tabelas publicadas apresentam padrões que diferem dentro de uma faixa de 5-15 bp e faltam padrões para as espécies recentemente descritas (CHIMARA et al., 2008; DEVALLOIS; GOH; RASTOGI, 1997).

Apesar dessas limitações o método PRA apresenta inúmeras vantagens, dentre as principais destacam-se a sua alta especificidade, a obtenção dos resultados em poucas horas, e o fato de requerer somente equipamentos básicos de PCR e de eletroforese em gel de agarose. Outras vantagens da metodologia PRA são:

- ▶ A identificação da MNT é independente da taxa de crescimento.
- ▶ Os equipamentos e reagentes são de baixo custo.
- ▶ A metodologia identifica a maioria das espécies de micobactérias incluindo aquelas não identificadas por métodos fenotípicos e HPLC (VINCENT et al., 2003).
- ▶ Não requer organismos viáveis para sua realização e identifica muitas espécies de MNT que não são identificáveis por meio de técnicas fenotípicas ou quimiotaxonômicos sozinhos.

### **1.1.3 Epidemiologia**

#### **1.1.3.2 Distribuição geográfica mundial**

Na atualidade, observa-se um elevado grau de interesse na doença causada pelas MNT, isso é o resultado de duas grandes tendências, uma observada desde o início da década de 1980, que é a associação da infecção por MNT em pacientes com Aids e a outra mais recente é a do reconhecimento de que a doença pulmonar por MNT tem se mostrado com freqüência também em ascendência na população imunocompetente (HORSBURGH et al., 2001; FREEMAN; MORRIS; BLACKMORE, 2008; GENTRY, 2005). Além disso, as infecções causadas pelas MNT estão surgindo em cenários previamente não reconhecidos. Um outro fator não menos importante que também vem contribuindo para aumentar o interesse na doença pela micobactérias é o avanço tecnológico na metodologia de identificação dessas micobactérias, resultando em isolamento e identificação mais rápida e precisa, das MNT de importância na clínica (ATS, 2007).

As MNT estão amplamente distribuídas na natureza e já foram descritas em vários países dos 05 continentes. Mostram-se presentes nos mais diversos ambientes, já tendo sido recuperadas do solo, água de reservatórios naturais (lagoas, mares e mananciais), e fontes de abastecimento (tratada), piscinas, água destilada (utilizada em diálise e soluções cirúrgicas), esgotos, na superfície de animais domésticos e selvagens, no leite e também em produtos alimentícios (COLLINS; GRANJE; YATES, 1984; REZNIKOV et al., 1974; PRIM et al., 2004; VON REYN et al., 1994; WOLINSKY; RINEARSON, 1966 e 1968).

É aceito atualmente por epidemiologistas, que a água, principalmente as de fontes naturais, seja o principal reservatório ambiental dessas micobactérias (VON REYN et al., 1994; GROOTE; HUITT, 2006; DUMOULIN et al., 1988; FALKINHAM III, 2009; FALKINHAM III; PARKER; GRUFT, 1980; FALKINAM III; NORTON; LE CHEVALLIER, 2001).

Colonizam o corpo humano na forma saprófita de vida, podendo causar infecções ou doenças. São isoladas a partir de diversas partes do corpo como a pele, ouvido externo, narinas, orofaringe, gengivas, vagina, genitália externa feminina e masculina, saliva, fezes, urina, além do escarro (LOPES et al., 2005; LOPES et al., 2006; FREITAS et al., 2003; ).

A maioria delas é capaz de multiplicar-se sob extremos de temperaturas, toleram alterações de pH, salinidade e variações de tensão de oxigênio, além de serem resistentes a desinfetantes, detergentes, ácidos, cloro e antissépticos. A sua hidrofobicidade facilita a aerossolização, conseqüentemente a transmissão e a formação de biofilmes, mecanismo responsável pela persistência em superfícies, favorecendo o desenvolvimento da infecção (HORSBURG et al., 1996; DANTEC et al., 2002).

A infecção habitualmente ocorre por inalação de aerossóis gerados no meio ambiente, mas pode ocorrer ainda por via digestiva, através da ingestão de partículas contaminadas ou ainda pela inoculação direta associada a trauma de procedimento cirúrgico ou por ocasião de procedimentos diagnósticos invasivos. Os estudos que mais têm contribuído para esse isolamento são os com o complexo *M. avium* (EDWARDS; PALMER, 1958; BODLE et al., 2008).

Não há nenhuma evidência de transmissão de animais para seres humanos ou entre seres humanos (VON REYN et al., 1993; TANAKA et al., 2000). Mesmo em pacientes com fibrose cística, população altamente suscetível à infecção por organismos oportunistas e que tem sido detectado aumento de isolamento de MNT, não houve documentação de transmissão dentre seres humanos (OLIVIER et al., 2001, 2003; O'BRIEN et al., 1987; SANGUINETTI et al., 2001).

Suspeita-se que a doença humana seja adquirida a partir de exposições ambientais, contudo na maioria dos casos a fonte específica de infecção não pode ser identificada (VON REYN et al., 2002; HORSBURG et al., 1996).

Recentes relatos demonstraram a contaminação por MNT em pacientes que se submeteram a procedimentos diagnósticos, sendo associados à limpeza e desinfecção inadequada de equipamentos médicos (GRIFFITH et al., 2007; PADOVEZE et al., 2007).

Com tais facilidades de contágio, prevalece a idéia de que as condições do hospedeiro têm importância fundamental no aparecimento das micobacterioses, especialmente naquelas onde há redução dos mecanismos de defesa do hospedeiro.

Embora as MNT apresentem uma distribuição mundial, a sua freqüência difere muito entre os países e em regiões do mesmo país (ATS, 2007). Observa-se que naqueles países com elevados índices de tuberculose, as micobacterias não tuberculosas não são objeto de atenção e, por isso, a incidência é desconhecida, como parece ser o caso do Brasil e outros países em desenvolvimento, enquanto que nos países desenvolvidos, onde a tuberculose apresenta baixos índices, as MNT são mais estudadas, portanto, parecem mais prevalentes.

Antes do advento da Aids, a doença causada pela micobactéria tinha como principal sítio de comprometimento os pulmões, isso observado na maioria dos casos, seguida pela forma ganglionar, quando se apresentava confinada aos linfonodos cervicais, depois a pele, e só em raríssimos casos, na forma de doença disseminada. Ahn e cols. relataram dados de população nos Estados Unidos com doença pulmonar por MNT nos quais foi observado predomínio de indivíduos do sexo masculino, com idade em torno dos sessenta anos de vida. A maioria dos pacientes da série apresentava condições pulmonares predisponentes (pneumoconioses, enfisema pulmonar) e os patógenos mais envolvidos identificados foram *M. kansasii*, *M. avium* e *M. intracellulare*. A predominância da espécie ficou na dependência da região de procedência dos indivíduos estudados. O *M. kansasii* era responsável pela maioria dos casos da região central americana e de zona urbana, e residiam em região central dos Estados Unidos; O *M. intracellulare* e o *M. avium* estava representado na área rural das regiões central e sudoeste americano (AHN et al., 1982).



Estudos posteriores mostraram que a doença por MNT apresentava uma variabilidade geográfica marcante tanto na prevalência quanto na distribuição das espécies responsáveis pelas doenças causadas por MNT (KATOCH et al., 2004; YATES et al., 1986; BODLE et al., 2008).

Doenças causadas por MNT foram descritas na maioria dos países industrializados, com taxas de incidência variando entre 1,0 - 1,8 casos/ 100.000 habitantes (HORSBURGH, 1996; CASSIDY et al., 2009). Estas taxas de incidência são estimativas baseadas em números de MNT isoladas e relatadas. O *MAC* é a espécie mais associada a doença, na maioria dos relatados, mas outras espécies têm sido cada vez mais implicadas. Embora diversos relatórios sugiram que a incidência da doença por MNT tem aumentado ao longo das últimas décadas, essa observação não foi conclusivamente estabelecida, devido à falta de vigilância global (FALKINHAM III, 1996).

Nos países em desenvolvimento, pouco se sabe sobre a real ocorrência das doenças por MNT. Dados de incidência e prevalência são de centros isolados e de maneira geral e pouco representativos (FANDINHO et al., 1997).

### **1.1.3.3 Panorama no Brasil e a ocorrência de surtos**

O primeiro estudo sobre micobacteriose no Brasil nos remete ao ano de 1938, quando Costa Cruz isolou e descreveu o *M. fortuitum* em fragmento de pele (CRUZ, 1938). Foi o marco inicial. A partir de então os microbiologistas e clínicos do país passaram a estudar as micobactérias e lentamente passam a publicar estudos com foco em MNT (BARRETO et al., 1992; BARRETO; CAMPOS, 2000).

A implantação dos sanatórios nas grandes capitais brasileiras, a partir da década de 40, centros equipados com laboratórios e aparelhagem adequadas para fins de diagnosticar e tratar tuberculose, propiciaram também, a medida que as MNT

apareceram como patógenos causadores de doença, o isolamento e a identificação das micobactérias não tuberculosas (FERRAZOLI; SILVA; ICHIKAWA, 1992)

Na década de 70 foram publicados alguns estudos nacionais, nos quais se relatava o isolamento de MNT em espécimes biológicos de homens sadios e também no solo e água. Observava-se em tais estudos mais interesse bacteriológico do que clínico ou epidemiológico. Em 1976 foram relatados por Laerte Andrade 10 casos de pacientes com doença por MNT sendo 02 por *M. kansasii*, 03 por *M. avium-intracellulare*, 02 por *M. fortuitum* e ainda 03 cujas espécies não foram isoladas, mas pertencentes aos grupos II (2) e IV (1) da classificação de Runyon (ANDRADE, 1976).

No Brasil, como no resto do mundo, também se verificou um aumento da doença por MNT após a epidemia da Aids (FERREIRA et al., 2002; BARRETO; CAMPOS, 2000). As décadas de 80 e 90 foram marcadas por um grande aumento no número de espécies isoladas em espécimes clínicos, principalmente em pacientes com Aids (KRITSKI et al., 1995). Isolados de espécimes clínicos, recebidos de diferentes regiões brasileiras e analisadas pelo Laboratório Nacional de Referência em Micobactérias do Centro de Referência Professor Hélio Fraga, no período entre 1994 e 1999, identificaram a seguinte distribuição de MNT nas amostras estudadas: *Complexo Mycobacterium avium* 44,4%; *M. kansasii* 13,7%; *M. fortuitum* 10,8%; *M. abscessus* 9,5% e *M. chelonae* 1,5% (MELLO; KRITSKI, 2010). A introdução da terapia anti-retroviral (HAART) se acompanhou de redução do número de casos do binômio MNT- Aids.

O período entre 2000 e 2008 se caracterizou por ocorrência de diversos surtos de infecção por MNT de crescimento rápido em vários estados do país. Foram notificados 2.139 casos de infecção por micobactérias de crescimento rápido, sendo 1.105 casos relatados no estado do Rio de Janeiro, 321 no Pará, 293 no Espírito Santo, 101 no Rio Grande do Sul, 70 em Goiás, 64 no Paraná, 47 no Mato Grosso, 37 em Minas Gerais, 23 em São Paulo, 23 no Distrito Federal, 9 na Bahia, 9 no Piauí, 9 no Mato Grosso do Sul, 5 em Sergipe, 5 em Santa Catarina, 3 em Pernambuco, 1 no Ceará, 1 no Acre, 1 no Amazonas, 1 em Rondônia e 1 no Tocantins (RENISS, 2009).

A maioria dos casos estava relacionada a procedimentos invasivos, como cirurgias laparoscópicas e por artroscopia, procedimentos de estética, cirurgias plásticas e oftalmológicas.

Os órgãos federais responsáveis pela vigilância epidemiológica (Secretaria de Vigilância à Saúde - SVS - Ministério da Saúde) e Vigilância Sanitária (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA) foram acionados para realizar investigações e intervir nos surtos epidêmicos de infecções pós-operatórias ou pós-procedimentos diagnósticos (ANVISA, 2009; MACEDO; HENRIQUES, 2009).

O Surto de Campinas/SP, ocorrido entre fevereiro de 2003 e abril de 2004, envolveu 33 de 492 pacientes submetidas à mastoplastia em quatro diferentes hospitais da cidade de Campinas. Foram coletadas amostras para análise microbiológica, tendo sido isolados as espécies: *M. fortuitum* e *M. porcinum* (PADOVEZE et al., 2004; UEKI et al., 2005).

O Surto em Belém/PA, relatado também em 2004, envolveu um grande número de casos de infecção pós-operatória por micobactéria de crescimento rápido em indivíduos, em pelo menos dezesseis diferentes serviços de saúde. Foi causado principalmente por *M. abscessus* em pessoas submetidas a operações por videolaparoscopia e mesoterapia, em um total de 310 pessoas. O Instituto Evandro Chagas, localizado em Belém, referência para doenças infecciosas do estado do Pará, identificou *M. abscessus* em 124 amostras. Mesmo sem ter sido identificada a fonte de contaminação, o surto foi controlado concomitantemente à adoção de cuidados específicos para os equipamentos e materiais reprocessados utilizados em videolaparoscopia, artroscopia, cistoscopia tais como a limpeza, a desinfecção e a esterilização de todas as partes dos equipamentos consideradas críticas, ou seja, elementos que penetrassem tecidos estéreis ou sistema vascular. Além do *M. abscessus* as cepas *M. massiliense* e *M. bolleti forma detectadas* nesse surto. (VIANA-NIERO et al., 2008).

O Surto na Região Metropolitana do Rio de Janeiro em 2006 foi detectado a partir de uma observação no serviço de videolaparoscopia do Hospital Pedro Ernesto, vinculado à Universidade Estadual do Rio de Janeiro, no qual se evidenciou um aumento no número de casos de infecção refratária ao tratamento habitual em pacientes submetidos à videolaparoscopias. Os municípios de Cabo Frio, Duque de Caxias, Nilópolis, Niterói, Nova Iguaçu também tinham casos relatados. Os procedimentos aos quais os pacientes haviam sido submetidos eram cirurgias plásticas e a videolaparoscópicas (colecistectomia, ginecológicas e exploração diagnóstica). Dentre as amostras enviadas para os laboratórios, houve 45 com baciloscopias positivas e 57 culturas positivas, sendo identificados, principalmente, *M. abscessus*, *M. chelonae* e *M. fortuitum* (GARCIA, 2007).

O Surto em Vitória/ES foi concentrado principalmente no ano de 2007. Os casos notificados haviam sido submetidos a operações em onze serviços privados de saúde. O suporte para as análises laboratoriais foi feito pelo Laboratório Central (LACEN) do Estado, que identificou *Mycobacterium massiliense* como a micobactéria presente no surto (ESPÍRITO SANTO, 2008).

Diversos outros estados apresentaram relato de surtos embora com números menos alarmantes: Goiás (47), Rio Grande do Sul (87), Paraná (50), Mato Grosso (45), Distrito federal (22) e Tocantins (29). O estado do Ceará não relatou surtos (ANVISA, 2009).

Desde 2009, a ANVISA determinou a notificação compulsória das infecções causadas por micobactérias de crescimento rápido (ANVISA, 2009) (ANEXO F).

#### **1.1.3.4 Situação no Ceará.**

No estado do Ceará, não foi registrado nenhum surto. Em relação a doença por MNT, como no resto do país, por não se tratar de doença de notificação compulsória junto aos órgãos governamentais, não se tem dados de incidência, mas estima-se que seja crescente.

Pacientes acometidos ou suspeitos de infecção por MNT no Ceará são referenciados ao Hospital Dr. Carlos Alberto Studart (HM), no bairro de Messejana, ligado a Secretaria de Estado da Saúde (SESA). O ambulatório de Tuberculose, do HM referência no atendimento de pacientes com TB multidrogarresistente (TBMDR) é também a referência de pacientes com doença por MNT, para todo o estado.

Estudos de prevalência ainda não são disponibilizados no país e nem no estado, por isso o interesse em se estudar a diversidade de espécies de micobactérias e aspectos clínicos e epidemiológicos de pacientes com micobacteriose tratados em ambulatório de tuberculose de hospital de referência de doenças pulmonares do estado do Ceará.

#### **1.1.4 Patogênese**

A doença humana causada pelas MNT só recentemente tem sido com mais freqüência documentada e diagnosticada. A baixa virulência, característica dessas micobactérias condiciona a sua patogenicidade à diminuição da resistência do hospedeiro. Essa condição, contudo, pode iniciar ou manter doença pulmonar em adultos, invadindo lesões pulmonares preexistentes (ATS, 2007; WILDNER et al., 2011). Portanto, a capacidade de causar doenças depende em geral da existência de alguma alteração estrutural prévia pulmonar ou em outro local e/ou ao déficit imunológico do hospedeiro, quando então as micobacterias encontram condições propícias ao seu desenvolvimento (TIMERMAN, 2004).

As MNT podem causar uma variedade de doenças em humanos e animais, que diferem em gravidade e importância para a saúde pública de acordo com sua virulência. Em humanos a infecção pode ser tanto assintomática quanto sintomática. As taxas de infecção assintomática têm sido inferidas a partir da utilização de testes com pesquisa de anticorpos e de testes cutâneos. Os testes cutâneos utilizam o derivado proteico purificado (PPD-B), também denominado sensitina. Tais testes porém, não são suficientemente específicos para indicar que aquela micobactéria não tuberculosa seja a responsável por determinada infecção

assintomática, além de que a resposta positiva ao teste pode ser resultado de reação cruzada com a infecção pelo *M. tuberculosis*. O teste de hipersensibilidade realizado entre os recrutas da Marinha dos EUA na década de 60 mostrou que reações com induração maiores de 4mm foram mais comuns em regiões no sudoeste dos Estados Unidos, sugerindo maiores taxas de infecção por MNT nessas áreas (EDWARDS et al., 1969).

Durante as últimas duas décadas, com base no estudo de inúmeras publicações com foco no binômio Aids-MNT, três observações importantes foram feitas a respeito da patogênese da infecção por MNT (ATS, 2007):

- ▶ Em pacientes infectados com HIV, a forma da doença é disseminada e está associada às espécies de crescimento lento, e normalmente só ocorrem após a queda no número de linfócitos T CD4 abaixo de 50, sugerindo que Células T específicas são necessárias para resistência às micobactérias.

- ▶ No grupo de pacientes não infectados pelo HIV, a infecção disseminada por MNT têm sido associada com síndromes genéticas, caracterizadas por mutações específicas interferindo na síntese de interferon (IFN) - e interleucina (IL) -12 e nas vias de resposta, como receptor 1 de IFN (IFN R1) e receptor 2 (IFN - R2) e receptores da subunidade da IL-12 (IL12R 1] a subunidade p40 (IL-12 p40), o sinal transdutor e ativador da transcrição 1 (STAT1) e do modulador do fator nuclear essencial.

- ▶ Existe também uma associação entre bronquiectasia, nódulos pulmonares, alterações físicas características do esqueleto, predominantemente em mulheres na pós-menopausa (ex. pectus excavatum, escoliose, prolapso da válvula mitral) e infecções pulmonares por MNT.

O pulmão é o principal órgão acometido pelas MNT. A doença pulmonar ocorre pela inalação de aerossóis contendo os bacilos, geralmente em pacientes com doença pulmonar preexistente. Nestes casos a avaliação clínica é complexa,

pois os sinais e os sintomas são variáveis, inespecíficos e similares ao da TB (HADDAD et al., 2005).

Na forma extrapulmonar as micobactérias não tuberculosas, podem comprometer linfonodos, pele, tecido subcutâneo, ossos, articulações, rins, meninges, olhos, e lesões disseminadas. (ROSEMBERG; TARANTINO, 2002).

#### **1.1.4.1 Formas clínicas**

##### **1.1.4.1.1 Doença Disseminada**

A forma disseminada da doença por MNT era praticamente desconhecida antes da década de 1980. Logo nos primeiros anos após a caracterização da epidemia da Aids tornou-se evidente a importância das infecções por MNT nesse grupo de pacientes.

A doença disseminada por micobactérias não tuberculosas está entre as infecções mais comuns e graves em pessoas com infecção pelo HIV em fase avançada. Embora um número de diferentes espécies de MNT tenham sido notificados, a maioria esmagadora (90%) dessas infecções são causadas pelo *MAC*, com mais de 90% dessas infecções devido ao *M. avium* (ATS, 2007). A frequência com a qual pacientes com Aids desenvolvem doença disseminada parece ser aproximadamente 15% a 20% por ano, quando se tem por base o diagnóstico estabelecido através de hemocultura, sendo quase o dobro em estudos de autópsia (ELLNER et al., 1991; RODRIGUES-BARRADAS et al., 1992). O mecanismo pelo qual a micobactéria infecta pessoas com HIV não é conhecido, embora se presuma ser através da ingestão da micobactéria de uma fonte ambiental. Pacientes que têm seus tratos respiratório e gastrointestinal colonizados, correm maior risco de desenvolver doença disseminada (CHIN et al., 1994; WALLACE et al., 1998).

Nos pacientes infectados pelo HIV, a doença ocorre quando os pacientes estão severamente imunocomprometidos, com níveis de CD4 muito baixos. Estudos sobre a história natural das pessoas com Aids na etapa pré-terapia anti-retroviral, mostrou que quase 40% dos pacientes com células CD4 em torno de 10/ml desenvolveram a doença por MNT no prazo de um ano (NIGHTINGALE et al., 1992). Numa série de pacientes com diagnóstico confirmado de doença por MNT, a média de CD4 na apresentação disseminada, foi menos de 25 células (NIGHTINGALE et al., 1992; HORSBURG et al., 2001). O consenso portanto dos especialistas é que, todas as pessoas com menos de 50/ml CD4 correm o risco de doença disseminada por MNT, e o risco é crescente com números progressivamente menores dessas células. Doença disseminada por *MAC* também tem sido demonstrado ser policlonais em alguns pacientes com Aids (ATS, 2007; MAIA et al., 2000; KRITSKI et al., 1998).

À exceção da doença por HIV em fase avançada, a doença disseminada por MNT é mais rara em quadros que cursam com outras formas de imunossupressão. No entanto, têm sido divulgado alguns casos de doença disseminada por MNT em pacientes adultos com leucemia, imunossuprimidos com disfunção renal ou transplante cardíaco, pacientes em uso crônico de corticosteroide e em uso de imunobiológicos bloqueadores de TNF (ATS, 2007; FRANÇA; AMATO, 1995).

Em pacientes com infecção avançada por HIV, as manifestações clínicas da MNT são associadas a grave desnutrição protéica e pode ser confundida com uma série de outras infecções. Outros sintomas se destacam como queixas de febre (80%), sudorese noturna (35%) e perda de peso (25%) principalmente quando a MNT presente é o *MAC* (NIGHTINGALE et al., 1992). Além disso, muitos pacientes queixam-se de dor abdominal ou diarreia. Os achados físicos em pacientes com *MAC* doença disseminada são inespecíficos, e podem incluir sensibilidade abdominal, hepatoesplenomegalia e linfadenopatia palpável em várias cadeias.

O envolvimento clínico do pulmão não é comum em pacientes com Aids que apresentam doença disseminada por MNT. Em uma série de 200 pacientes HIV positivos infectados pelo *MAC*, apenas 5 pacientes (2,5%) apresentavam doença



pulmonar concomitante (KALAYJIAN et al.,1995). Embora o *MAC* não seja uma causa freqüente de doença parenquimatosa pulmonar pode ser comumente isolado do trato respiratório de pacientes infectados pelo HIV. Em um estudo de pacientes com menos de 50/ml CD4, aproximadamente 10% tinham *MAC* isolado de uma amostra respiratória em algum momento durante o “*follow-up*” (CHIN et al., 1994). Nesse mesmo estudo, observou-se que das pessoas que apresentavam *MAC* no escarro, nenhuma tinha a doença pulmonar ativa, embora uma porcentagem elevada desses pacientes acabou desenvolvendo infecção disseminada pelo *MAC*. O *MAC* só ocasionalmente tem sido relatado como uma causa de infecção pulmonar em pacientes HIV-infectados sem evidência de disseminação (HOCQUELOUX et al., 1998).

O método de diagnóstico de *MAC* disseminada costuma ser não-invasivo, com mais de 90% das pessoas diagnosticadas através de hemoculturas positivas, sendo que uma única cultura tem sensibilidade de aproximadamente 90%, o que torna desnecessária a realização de culturas repetidas. A repetição de culturas é indicada apenas quando a primeira for negativa (ATS, 2007). Para pessoas assintomáticas com CD4 baixo as culturas de rotina não são recomendadas. Para os pacientes sintomáticos com duas hemoculturas negativas, biópsia e cultura de medula óssea ou do fígado são às vezes indicado. Vários sistemas comerciais de sangue para cultura de MNT estão disponíveis. Para micobactéria de crescimento rápido, estes sistemas especiais não são necessários porque a maioria das espécies crescem bem em sistemas de cultura de sangue de rotina.

O prognóstico para o paciente com Aids infectado por micobactérias do complexo *M. avium* é sombrio. Isso se deve a alguns problemas relacionados com o tratamento para MNT, dentre eles, demora na informação sobre susceptibilidade ou resistência a drogas e falta de correlação entre dados obtidos no laboratório, relativos à resistência ou susceptibilidade e sucesso ou fracasso da terapia. Alguns desse problemas resultam do fato de que as MNT são parasitas intracelulares e, assim, a susceptibilidade *in vitro* pode não refletir o que ocorre *in vivo*. Adicionalmente, há evidências de que uma proporção significativa de pacientes com Aids é infectada por mais de uma cepa de micobactéria do complexo *M. avium*, ou seja, a infecção é policlonal e assim o sucesso do tratamento mais difícil de ser atingido.

Apesar da doença disseminada por bactérias do complexo *M. avium* ter aparecido como uma complicação comum, debilitante e potencialmente fatal no paciente com Aids, existem relatos de isolamento de outras espécies de MNT nesse tipo de paciente. Dentre essas espécies destacam-se: *M. kansasii*, *M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. fortuitum* e *M. marinum* (Horsburgh e Selik, 1989). Essas espécies podem provocar doença disseminada e pulmonar.

#### **1.1.4.1.2 Doença dos Linfonodos**

A linfadenite cervical é a forma mais comum de manifestação por MNT em crianças (ATS, 2007). A maioria dos casos é descrita em crianças entre 18 meses e cinco anos (LINCOLN & GILBERT, 1972). Em estudo conduzido por Romanus e colaboradores, que incluiu vários países, cujo objetivo era avaliar fatores de risco associados a maior ocorrência da doença, chamou atenção dos pesquisadores as maiores taxas de doença do sistema linfático apresentadas em crianças de países onde não havia vacinação BCG de rotina, quando comparadas com as de países onde a vacinação é rotina. (ROMANUS et al., 1995). Taxas elevadas de adenite cervical por MAC foram observadas nos Estados Unidos no Final de 1970 (LINDEBOOM et al., 2005). Os autores não observaram fatores de risco predisponentes associados, embora, sabendo que as crianças americanas não fazem vacinação com o BCG. Katila e colaboradores mostraram em outro estudo que crianças que foram vacinadas com o BCG, tiveram risco reduzido de adenite cervical pelo MAC (KATILA et al., 1987). Atualmente, cerca de 80% dos casos comprovados através de cultura de linfadenite por MNT são devidos ao MAC (WOLINSKY, 1995).

A doença por comprometimento dos linfonodos apresenta uma modesta predominância do sexo feminino, e quase todos os casos relatados são em indivíduos brancos (NÉLSON et al., 1998). Na ausência de infecção pelo HIV, a linfadenite raramente acomete adultos. Os linfonodos mais frequentemente comprometidos são os das cadeias cervicais, particularmente os submandibulares,

seguidos pela cadeia pré-auricular. Os linfonodos inguinais e axilares são menos afetados, e o acometimento a exemplo do que se observa nos linfonodos cervicais, geralmente é unilateral em 95% dos casos. O acometimento local não apresenta sinais inflamatórios ou dor, porém os linfonodos podem aumentar rapidamente de tamanho, podendo se observar ruptura com fistulização, resultando em drenagem local prolongada. Outra vezes, observa-se regressão da linfadenomegalia e cura com fibrose e calcificação (ATS, 2007).

A doença é insidiosa e a repercussão sistêmica desse comprometimento é praticamente inexistente. Provavelmente, o processo infeccioso tem seu início a partir de um ferimento na boca ou garganta e posterior penetração da micobactéria. Uma vez que trauma na gengiva ou mucosa faríngea determine drenagem linfática para cadeia de linfonodos regionais, submandibulares e cervicais, são eles portanto, mais comumente comprometidos (TIMERMAN, 2004). A linfadenite por MAC também é visto em pessoas infectadas pelo HIV, sobretudo como uma manifestação da reconstituição da síndrome imunológica. Nódulos cervicais, mediastinais, ou retroperitoniais podem estar envolvidos.

Algumas séries têm observado que os casos de adenite cervical vêm se tornando mais comuns, sugerindo que esse achado poderia refletir que as crianças poderiam ser susceptíveis ao contato freqüente com fontes de MNT como o solo e a água (WOLINSKY, 1995). Adultos com testes cutâneos positivos para antígenos de MNT, provavelmente adquiriram a infecção, assintomática, durante a infância (WOLINSKY, 1995).

No Brasil, assim como na Austrália, países de clima tropical, além do MAC destacam-se casos por *M. scrofulaceum* e *M. Kansasii*; Ao passo que na Escandinávia, Reino Unido, e outras áreas do norte da Europa, *M. Malmoense* e *M. Haemophilum* surgem como principais patógenos após o MAC (LINDEBOOM et al., 2005; ZAUGG et al.,1993). A predominância do MAC é uma mudança de 30 anos atrás, quando a maioria das áreas geográficas estudadas mostravam o *M. Scrofulaceum* como o agente etiológico mais comum relatado (LINCOLN & GILBERT, 1972; WOLINSKY, 1995). A justificativa que tem sido especulada é que a água era a fonte de *M. scrofulaceum*, e o uso generalizado de cloro no tratamento

da água resultou no desaparecimento das espécies, uma vez que o *M. Scrofulaceum* é relativamente mais sensível ao que o cloro, quando comparado com outras espécies de MNT.

Em contraste, em adultos, se observa que nas linfadenites cujas culturas isolam MNT, mais de 90% delas é devido ao *M. tuberculosis* (WALLACE et al., 1997). É de fundamental importância a distinção entre linfadenite causada por *M. Tuberculosis*, da linfadenite causada por MNT. A primeira não só requer tratamento medicamentoso, mas também monitoramento de saúde pública, enquanto na linfadenite por MNT, geralmente não se observa história de exposição à tuberculose, a pesquisa do PPD em contactantes familiares é geralmente negativa, e a radiografia de tórax é normal. Embora os resultados não sejam diagnósticos, todos os doentes, crianças e adultos, com suspeita de linfadenite por MNT devem realizar um teste tuberculínico. Crianças com linfadenite por MNT quando testadas com 5 unidades de tuberculina apresentaram uma série de reações de negativo para positivo; e até um terço em uma série apresentaram reações de 10 mm ou mais de endureção (GRNJE et al., 1995).

O diagnóstico definitivo de linfadenite por MNT requer cultura com identificação da micobactéria. A utilidade da punção aspirativa por agulha fina para obtenção de material de diagnóstico é variável (LAU et al., 1991). No entanto, uma vez realizada a biópsia, a maioria dos casos apresenta granulomas ou outros achados citopatológicos compatíveis, tais como uma mistura de degeneração de granulócitos, linfócitos e histiócitos epitelióides (GUPTA et al., 1993).

#### **1.1.4.1.3 Pele, Tecidos Moles e Doença Óssea**

A doença por MNT causada na pele, tecidos moles e ossos, geralmente apresenta sinais e sintomas de inflamação como dor, aumento de temperatura, eritema, nódulos e ou abscessos, podendo evoluir com drenagem de secreções, fístulas ou deiscências de suturas (LEWIS, et al., 2003). Este tipo de afecção associa-se mais frequentemente às seguintes espécies de MNT: *M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. marinum* e *M. ulcerans* (ATS, 2007). No entanto,

praticamente todas as espécies de MNT já foram descritas como causadoras de doença cutânea (FALKINHAM III, 1996; WOLINSKY, 1979).

Dentre os quadros patológicos que podem ocorrer descrevem-se:

- A. Granuloma de piscina – infecções cutâneas associadas a contato com piscinas são descritas desde 1939. Em 1954, Linell e Norden isolaram de tais lesões um bacilo álcool-ácido-resistente, inicialmente denominado de *M. balnei*, que posteriormente foi substituído por *M. marinum* (Linell e Norden, 1954). Infecções cutâneas dos membros superiores e inferiores correlacionadas a esse micorganismo podem ser adquiridas através de banho de mar, manipulação de peixes em aquários, etc. (COLLINS; GRANJE; YATES, 1984; CAI et al., 2006).

Caracteristicamente as lesões apresentam-se como nodulações eritematosas, isoladas ou múltiplas, edemaciadas, que surgem em torno do local onde se deu o ferimento; tais lesões podem evoluir para necrose e ulceração. As lesões associadas a infecção por *M. Marinum* restringem-se à pele, pois é na temperatura dessa estrutura em torno de 30° que a micobactéria se desenvolve. O diagnóstico é feito pela cultura do patógeno específico a partir de material de drenagem ou biópsia do tecido.

- B. Abscessos localizados – Lesões abscedadas podem se formar em locais de administração de medicamentos parenterais ou em região de cicatriz cirúrgica. Na grande maioria das vezes, esses quadros são causados pela *M. fortuitum* e *M. chelonae*, cuja principal característica biológica é o crescimento rápido. Em geral tais abscessos se mantêm localizados, e se resolvem com simples drenagem.

O diagnóstico da doença por MNT acima descrita é obtido através da cultura com identificação da micobactéria (ATS, 2007). A coleta asséptica do material do sítio suspeito, seja líquido, ou outro fluido, colhido através de aspiração

com agulha ou algum procedimento cirúrgico é recomendada. Swabs não são recomendados para coleta de amostras porque muitas vezes não são aplicados de forma correta, resultando em material de cultura limitada, e também sujeitos à dessecação, o que diminuem as chances de recuperação da MNT. Para minimizar a contaminação ou proliferação de bactérias e fungos, procedimentos de digestão e descontaminação deve ser realizados em amostras coletadas em locais do corpo não estéreis. As amostras provenientes de sítios contaminados podem conter outros microrganismos que podem crescer mais rapidamente que a MNT e interferir com a recuperação das micobactérias. Amostras de tecidos ou fluidos de sítios normalmente estéreis não necessitam de descontaminação.

O método mais utilizado de digestão e descontaminação usa N-acetilcisteína e hidróxido de sódio (NaOH-NALC). Este método é geralmente usado em conjunto com um procedimento de ácido oxálico a 5% ("Processamento duplo") para amostras de pacientes com fibrose cística e bronquiectasias cujos escarros são conhecida e contaminados com bastonetes aeróbios gram-negativos, especialmente *Pseudomonas aeruginosa* (WHITTIER, 1993).

- C. Lesões ulceradas – são causadas pelo *M. ulcerans*, que foi primeiramente descrito na Austrália em 1948. A lesão ulcerada em sua forma característica, denominada “a úlcera de Buruli”, mostra-se lentamente indolente, progressiva, acarretando significativa destruição da pele e de tecidos adjacentes. Acomete principalmente as extremidades. Até o momento, não foi descrita no Brasil.
- D. Lesões ósteo-articulares – caracteristicamente são lesões de evolução lenta, com pouca ou nenhuma manifestação sistêmica. Encontram-se relatados casos de acometimento sinovial, dos tendões e bursa, especialmente nos membros superiores; ocasionalmente, a coluna vertebral pode ser acometida (CHAN et al., 2001). A infecção crônica granulomatosa causada por MNT pode se desenvolver nas bainhas dos tendões, articulações e ossos por mecanismo de inoculação direta da micobactéria através de traumatismos acidentais, incisões cirúrgicas, perfurações ou injeções intra-articulares, incluindo a administração dos esteróides.

O *M. marinum* e o MAC são particularmente propensos a causar tenossinovite da mão, embora a *M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. chelonae* e *M. kansasii* possam também estar envolvidos (FALKINHAM III, 1996; WOLINSKY; RYNEARSON, 1968). O *Complexo M. terrae* (especialmente *M. nonchromogenicum*) também tem sido isolado de tecidos sinoviais da mão ou do pulso, e está associado a comprometimento indolente e crônico (PARKER et al., 1983).

A osteomielite por MNT após trauma fechado foi observado em uma série de pacientes (CHAN et al., 2001). Ocasionalmente, os ossos axiais e as extremidades foram infectados sem trauma aparente, provavelmente devido à infecção hematogênica. Osteomielite do osso externo, após cirurgia de coração, causada por *M. abscessus* ou *M. fortuitum*, também foi relatada, com ambas doenças epidêmicas e esporádicas (SZABO, 1980). Tal manifestação pode assumir extrema gravidade quando a infecção invade mediastino, pericárdio e grandes vasos torácicos.

O diagnóstico da doença óssea por MNT também é obtido pela identificação da MNT no tecido ósseo, na articulação ou no líquido articular. Amostras de pele, líquido articular e óssea devem ser cultivadas na temperatura entre 28 e 30° C e entre 35 e 37° C. Observa-se que quando se utiliza duas temperaturas de incubação a recuperação das espécies é obtida na quase totalidade dos casos. Para detectar *M. ulcerans* ou *M. genavense*, as culturas devem ser incubadas por pelo menos 8 a 12 semanas. Micobactérias de crescimento rápido geralmente crescem dentro de 7 dias de subcultivo. A detecção precoce de MNT pode ser esperada com sistemas à base de líquidos.

A indicação do tempo de crescimento, em dias para a detecção de micobactérias, fornecida no relatório do laboratório, pode ser útil para os médicos, como uma indicação de isolamento de uma espécie de crescimento rápido.

#### **1.1.4.1.4 Doença do globo ocular**

As doenças oculares por MNT estão comumente associadas a trauma ou uso de lentes. O comprometimento é traduzido por ceratites e úlcera de córnea (CHUNG et al., 2000). Também pode ocorrer devido a uma complicação de cirurgia refrativa, podendo levar a importante diminuição da acuidade visual. As doenças são causadas por MNT de crescimento rápido. Um rápido reconhecimento clínico com a confirmação laboratorial e uma terapia adequada são fundamentais para a melhora do paciente (WINTHROP et al., 2003).

#### **1.1.4.1.5 Doença do trato gênito-urinário**

As doenças por MNT do trato genitourinário são muito raras, contudo alguns estudos descrevem casos de infecção urinária por MNT em pacientes imunodeprimidos, como por exemplo os pacientes submetidos a transplante renal (QUEIPO et al., 2003; QUNIBI et al., 1990).

A caracterização de infecção do trato urinário por micobactéria não-tuberculosa configura em grande dilema clínico, uma vez que amostras de urina não se constituem em material confiável, na medida em que se leva em consideração o elevado índice de contaminação da uretra terminal por *M. smegmatis*, saprófita comumente encontrado nessa região (BROOCKER; UFDERHEIDE, 1980). Formas ainda mais raras são as descritas pelo acometimento da próstata e do epidídimo (SHIMIZU et al., 1987).

#### **1.1.4.1.6 Outros sítios mais raros de doença por MNT**

As infecções por MNT foram descritas em diversos outros sítios além dos descritos acima, como pleura, peritônio, coração, dentre outros. Geraci e colaboradores relataram um caso de endocardite por micobactérias não tuberculosas do grupo IV de Runyon, o complexo *fortuitum-chelonae* (GERACI et al., 1968). O “CENTER FOR DISEASE CONTROL” (CDC) em 1977 em publicação,



relatou a identificação de *Mycobacterium chelonae* em culturas de 4 biopróteses cardíacas de porco preservadas em glutaraldeído a 0,2%, fabricadas pelo laboratório Hancock (CDC, 1977). Laskowski e colaboradores relataram 8 casos de pacientes que receberam biopróteses contaminadas com esta mesma micobactéria, fornecidas pelo mesmo laboratório (LASKOWSKI et al., 1977). Há relatos ainda de alguns casos isolados de endocardite infecciosa causada por micobactérias não tuberculosas em portadores de bioprótese de porco Hancock, contaminadas com *M. chelonae* de alguns lotes de válvulas fabricadas entre outubro de 1975 e agosto de 1976 (LEVY et al., 1977; TYRAS et al., 1978). Outros casos de endocardite por micobactérias do grupo *fortuitum-chelonae* têm sido relatados após cirurgia de revascularização miocárdica e em portadores de próteses cardíacas mecânicas, assim como em infecções do esterno e da ferida operatória provocados por fontes não identificadas (REPATH et al., 1976).

#### **1.1.4.1.7 Doença Pulmonar e Pleural**

O pulmão é o principal órgão acometido pelas MNT. A doença ocorre pela inalação de aerossóis contendo os bacilos, geralmente em pacientes com doença pulmonar preexistente, como doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), bronquiectasias, pneumoconioses, fibrose cística, pulmão com sequela de TB, proteinose alveolar pulmonar, e em alguns casos associadas a distúrbios de motilidade do esôfago, na qual a agressão ao pulmão se desenvolve secundária às aspirações crônicas de material alimentar pelas vias aéreas (ATS, 2007).

Clinicamente é caracterizada como doença de evolução crônica, em muito se assemelhando à tuberculose. Na maioria das séries, acomete homens entre 40 e 50 anos, com histórico de doença pulmonar prévia, alguns com história de abuso de álcool (O'BRIEN et al., 1987; FALKINHAM III, 1996; WOLINSKY, 1979; MELO; KRITSKI, 2010). Mas, também pode ocorrer em mulheres, sem fator predisponente claramente reconhecido (PRINCE et al., 1989; WALLACE et al., 1998; GRIFFITH et al., 1993).

Deve-se sempre pensar na possibilidade da existência de infecção pulmonar por MNT quando o paciente se apresentar com quadro clínico sugestivo de tuberculose pulmonar clássica, mas ao lado disso apresentar alguma dentre as condições predisponentes acima relatadas. A associação entre bronquiectasia e MNT, geralmente relacionada ao *MAC*, é muito bem documentada. Estes pacientes podem apresentar múltiplas cepas *MAC*, sugerindo uma infecção policlonal ou infecção recorrente com cepas distintas (GRIFFITH et al., 1993; KENDAL et al., 2011).

Uma outra forma de apresentação da doença pulmonar por MNT foi observada em mulheres de pele clara, não fumantes, pós - menopausa com alterações radiológicas de padrão intersticial, no qual predominava múltiplos e pequenos nódulos pulmonares, associadas a bronquiectasias que comprometiam preferencialmente o lobo médio e a língula. Essas alterações pulmonares também apresentavam-se em pacientes com algumas características físicas peculiares como, escoliose, pectus excavatum e prolapso de válvula mitral (ISEMAN et al., 1991; KIM et al., 2008). Estas características fenotípicas podem representar marcadores de genótipos específicos que determinam susceptibilidade à infecção por MNT ainda não totalmente esclarecidas. A doença nessa forma pulmonar peculiar, também denominada de bronquiectásica nodular, tem como principal característica uma evolução lenta.

Mais recentemente, foi descrita uma síndrome associada ao *MAC*, cuja forma de apresentação se assemelha a uma pneumonite por hipersensibilidade. Não está claro se a reação é desencadeada por antígenos do *MAC* ou se por substâncias orgânicas e inorgânicas encontradas em águas aquecidas de banheiras, que poderiam contribuir para a patogênese, uma vez que os casos foram descritos em spas. (FIELD; COWIE., 2006).

Outros casos também foram descritos associados à exposição ocupacional de metalúrgicos, à óleo de pinha, parafina e hidrocarbonetos aromáticos. Os pacientes habitualmente eram mais jovens que os indivíduos com o quadro clássico, não fumantes e em alguns casos evoluíram com insuficiência respiratória (MELO; KRITSKI, 2009).

A doença pulmonar por MNT pode ocorrer também, em outra categoria de pacientes imunodeprimidos como os submetidos a transplante renal, portadores de doenças linfoproliferativas, leucemias e/ou em uso de imunossupressor (WHINNEY et al., 2005). Importante também é ressaltar o papel dos bloqueadores do fator de necrose tumoral (TNF- alfa), que embora já com riscos bem estabelecidos de conduzir a taxas relativamente altas de desenvolvimento de tuberculose ativa naqueles indivíduos portadores de tuberculose latente e também predisponem à infecções fúngicas invasivas, como aspergilose, histoplasmoses e coccidioidomicose não tem até o momento risco associado para predisposição a infecções por MNT ou de promover a progressão da infecção por MNT ativa. (KEANE et al., 2001; KEANE, 2004; WALLIS et al., 2004).

No Brasil, as espécies mais frequentemente associadas à doença pulmonar por MNT são: *M. kansasii*, e *M. avium*. Outros patógenos como *M. xenopi*, *M. malmoense*, *M. abscessus* e *M. szulgai* são isolados ocasionalmente (SILVA, EAM. et al., 1987; FERRAZOLI; SILVA; ICHIKAWA, 1992; BARRETO; CAMPOS, 2000; CHIMARA, 2005).

Na literatura nacional, no entanto, especula-se que a doença pulmonar relacionada ao *Mycobacterium kansasii* ou a outras MNT esteja subestimada e muitos dos casos podem estar sendo tratados como tuberculose. Esta hipótese baseia-se no fato de não ser rotineira a identificação das micobactérias e, de que o esquema terapêutico utilizado para o tratamento da tuberculose contém drogas parcialmente eficazes para o tratamento das MNT. Em um estudo realizado no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, no período de 1995 a 1999, de 9.381 micobactérias identificadas, 10% eram representadas por MNT. O *Mycobacterium kansasii* foi a segunda mais freqüente (3,2%), sendo precedido pelo complexo *Mycobacterium avium* (CHIMARA et al., 2004; PEDRO et al., 2008).

Aproximadamente 80% das doenças pulmonares causadas por MNT de crescimento rápido são causadas por *M. abscessus* e ocorrem mais frequentemente

em indivíduos com mais de 50 anos, mulheres e não fumantes (BROWN – ELLIOTT; WALLACE, 2002; KOH et al., 2002).

O acometimento pleural pode ocorrer, embora não seja frequente quanto o comprometimento pulmonar. Um caso de derrame pleural por *M. kansasii* isolada tanto no líquido como na pleura foi descrito em São Paulo, em 2005 (Seiscento e cols., 2005). Derrame pleural por *M. kansasii* no líquido e no fragmento pleural é incomum na literatura. Outro caso de derrame pleural por *M. kansasii* foi descrito em indivíduo imunocompetente, associado a pneumotórax. O paciente evoluiu com loculação do líquido pleural, tendo sido necessária a decorticação (OLAFSSON et al. 2004). Há também na literatura relato de caso em um paciente que apresentava infecção pulmonar por *Mycobacterium kansasii* e concomitante derrame pleural (KAMIYA et al., 2004). Ainda que o derrame pleural por MNT seja raro, especialistas recomendam que a sua presença deva ser considerada em pacientes com derrames pleurais de difícil resolução, principalmente, se associados à imunossupressão, seqüelas de tuberculose, doença pulmonar obstrutiva crônica ou outras comorbidades. O diagnóstico é feito pela cultura e identificação de micobactérias no líquido pleural.

### **1.1.5 Manifestações Clínicas**

Os sintomas da doença pulmonar por MNT são variáveis e inespecíficos. A tosse aparece praticamente em todos os pacientes, podendo ser recorrente ou persistente. Outros sintomas incluem variável produção de expectoração, dispnéia, hemoptise e dor torácica. Os sintomas constitucionais como adinamia, febre, mal-estar e perda de peso são menos vistos nos estágios iniciais, tornando-se progressivamente mais prevalentes com o avanço da doença (ATS, 2007; KOH et al., 2002; GENTRY, 2005; SÃO PAULO, 2005).

A avaliação clínica e o diagnóstico diferencial é muitas vezes complicado pela presença dos sintomas da doença pulmonar preexistente. Os achados de exame físico são inespecíficos e refletem a patologia pulmonar subjacente, como

bronquiectasias e doença pulmonar obstrutiva crônica. Alterações na inspeção do tórax, bem como na palpação e percussão não oferecem achados específicos e na ausculta pulmonar, os resultados podem incluir roncos, crepitações e sibilos.

### **1.1.6 Diagnóstico Radiológico**

Em geral as imagens radiológicas são inespecíficas, mas quando analisadas no conjunto de um contexto epidemiológico e de manifestações clínicas podem propiciar algum subsídio. A radiografia de tórax é o exame inicial, mas a tomografia computadorizada do tórax, cada vez mais vem sendo recomendada, devendo ser realizada, respeitando a disponibilidade de cada serviço.

Determinadas imagens podem ser bem sugestivas, embora, não sejam patognomônicas. Comparando os achados radiológicos presentes na forma fibrocavitária, comum na tuberculose (TB) e na doença por MNT, especialistas recomendam a observação para algumas mudanças apresentadas pelos pacientes com MNT:

- As cavidades apresentam-se com paredes finas e as infiltrações ao redor menos densas.
- A disseminação predominantemente é por contiguidade.
- O envolvimento se apresenta preferencialmente nas porções anteriores e apicais dos lobos superiores.
- Observa-se que o comprometimento da pleura mostra-se através de espessamento, o qual é observado ser maior nas regiões atingidas quando comparadas com as não atingidas.

Nenhuma dessas diferenças, no entanto, é suficientemente específica para confirmação do diagnóstico de MNT e excluir o diagnóstico de tuberculose. A doença por MNT pode produzir doença do espaço aéreo denso ou um nódulo pulmonar solitário, sem cavitação. Comprometimento de bases não é comum e

derrame pleural é raro (WALLACE et al., 1997; WOLINSKY, 1979; EVANS et al., 1996).

### **1.1.7 Diagnóstico laboratorial**

Para estabelecer o diagnóstico de doença pulmonar por MNT, a coleta de material para exame microbiológico é essencial. Para isso alguns cuidados devem ser tomados para que o material coletado esteja em condições para a realização dos testes de identificação. Para atingir esse objetivo a Associação Torácica Americana (ATS) em conjunto com o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), faz recomendações quanto a coleta, descontaminação, digestão e coloração de espécimes, cuidados observados nos laboratórios habilitados para o processamento das amostras. As amostras para identificação de micobactérias e testes de susceptibilidade podem ser colhidos a partir de praticamente qualquer área do corpo. Para fins de diagnóstico da doença pulmonar por MNT pulmonar, a coleta de três amostras de secreção matinal em dias diferentes é a recomendação .

Para pacientes que não conseguem produzir escarro, pode-se tentar a indução do escarro, utilizando soro fisiológico por aerossol. Embora, o escarro induzido seja um método eficaz para diagnosticar TB, não há até o momento dados disponíveis que mostre o mesmo valor em relação a doença por MNT (ANDERSON; INHABER; MENZIES, 1995). Além disso, a metodologia ideal para a indução de escarro neste cenário não foi determinada. Na impossibilidade de obtenção do escarro, a broncoscopia com ou sem a biópsia pulmonar transbrônquica pode ser necessária. Considerando a possibilidade de broncoscopia é importante realizar a limpeza adequada dos broncoscópios que incluem a não utilização de água da torneira, que pode conter micobactérias ambientais.

O Consenso da Sociedade Americana de Tórax (American Thoracic Society – ATS) de 2007 faz as seguintes considerações para se confirmar o diagnóstico da doença pulmonar por MNT:

**Critérios clínicos (ambos necessários):**

- Sintomas pulmonares, cavidades ou opacidades nodulares na radiografia de tórax, ou TCAR com a presença de bronquiectasias multifocais com múltiplos pequenos nódulos associados.
- Exclusão apropriada de outros diagnósticos (por ex. TB, câncer, histoplasmoze).

**Critérios microbiológicos (pelo menos um deles):**

- Culturas positivas de pelo menos duas amostras distintas de escarro espontâneo;  
Ou
- Uma cultura positiva de escovado ou lavado brônquico;  
Ou
- Uma biópsia pulmonar, transbrônquica ou não, com achados histopatológicos sugestivos de doença microbiana (inflamação granulomatosa ou presença de bacilo álcool-ácido resistente) e uma cultura positiva para MNT ou biópsia com achados histopatológicos sugestivos de micobacteriose (inflamação granulomatosa ou presença de bacilo álcool-ácido resistente) e uma ou mais amostras de escarro ou lavado brônquico com culturas positivas para MNT.

**1.1.8 Tratamento**

O tratamento é bastante complexo, uma vez que as MNT são naturalmente resistentes ou têm pouca sensibilidade aos fármacos antituberculose. Esta sensibilidade difere entre as espécies e entre cepas de uma mesma espécie. Não existe um consenso sobre o tratamento mais adequado para a doença por MNT. Não há validação dos testes de suscetibilidade “*in vitro*”, tampouco se

observa uma boa relação entre os resultados “*in vitro*” e a resposta clínica (GUTIERREZ et al., ano; ATS, 2007).

As orientações terapêuticas atuais se baseiam em estudos retrospectivos com poucos casos, com experiências de tratamentos para espécies do *MAC* e do *M. kansasii*, as quais constituem as espécies mais frequentemente isoladas, e envolve vários esquemas e múltiplas drogas e, portanto, o risco de reações adversas a medicamentos e/ou toxicidade é relativamente alto (BRITO, 2004). Além disso, o esquema terapêutico ideal ainda não foi estabelecido, embora, haja consenso entre especialistas, que para se obter um tratamento eficiente é necessário inicialmente identificar a espécie causadora da doença, para que de acordo com a sua sensibilidade, sejam escolhidos os fármacos a serem utilizados (ROSEMBERG; TARANTINO, 2002; ATS, 2007).

Alguns especialistas acreditam que por causa dos frequentes e graves eventos adversos associados às drogas, a cura microbiológica pode não ser atingida, especialmente em indivíduos mais idosos e debilitados com comorbidades, que requerem tratamento com medicações muitas vezes incompatíveis com o tratamento multidroga para a doença por MNT. A escolha do regime terapêutico, portanto, pode ser diferente, quando se considera diferentes populações de pacientes. Essas diretrizes oferecem uma escolha de várias opções de tratamento que podem ser selecionados com base na apresentação clínica e nas necessidades de cada paciente (BAILEY, 1983; KEVORKOFF et al., 1993).

O fundamento da terapia encontra seus pilares nos macrolídeos (claritromicina e azitromicina) e etambutol. Esses agentes são então combinados com outra droga, geralmente uma rifampicina e, excepcionalmente, um aminoglicosídeo injetável, isso quando se está diante da doença por *MAC*. Quando se tem o *M. kansasii* na ausência de tratamento prévio com drogas antimicobacterianas, recomenda-se a rifampicina associada ao etambutol e isoniazida. O *M. kansasii* é também suscetível “*in vitro*”, para nível sérico exequível de claritromicina, sulfametoxazol, amicacina, fluoroquinolonas, e rifabutina, embora haja informações limitadas sobre a utilidade clínica destas drogas (ATS, 2007).



Usualmente a terapia deve ser administrada diariamente, até a negatificação da cultura, que ocorre geralmente entre 06 e 12 meses. O tratamento deve ser mantido por no mínimo 12 meses após a negatificação da cultura. Portanto, o tratamento medicamentoso deve durar em média 18 a 24 meses. Para aqueles pacientes que não toleram a terapia diária, ou aqueles que não exigem uma estratégia de tratamento agressivo um curso intermitente em três vezes por semana pode ser instituído. Os pacientes que apresentam falência de tratamento devem merecer atenção diferenciada, e medicação instituída analisada para cada caso, com inclusive possibilidade de serem candidatos potenciais a cirurgia, principalmente nos casos de doença pulmonar localizada (SÃO PAULO,2005).

No Brasil, mesmo as doenças por MNT não sendo de notificação compulsória, o tratamento depende de drogas fornecidas pelo Ministério da Saúde (MS), que exige o registro obrigatório do caso no Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) – Divisão de Tuberculose. O registro deve ser feito através do envio do formulário disponível pelo Ministério (ANEXO F).

No Ceará os casos suspeitos são encaminhados para confirmação do diagnóstico e tratamento no ambulatório referência, Hospital de Messejana em Fortaleza. O Laboratório Central (LACEN) ligado a Secretaria de Saúde do estado recebe os espécimes biológicos do Hospital de Messejana para análise microbiológica. É solicitado a cada paciente duas amostras de escarro para cultura em coletas consecutivas; uma vez evidenciado o crescimento de MNT o formulário do MS é preenchido e enviado ao Centro de Referência Professor Hélio Fraga, juntamente com novas duas amostras do material biológico, para a identificação da espécie. O tratamento vem diretamente para o centro referência local para cada caso específico.

## 2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

### 2.1 Justificativa

O adoecimento resultante da infecção por micobactéria não tuberculosa pode apresentar repercussões no organismo inteiro. Nos países em desenvolvimento como o Brasil, assim como na TB, a doença tem forte apelo econômico e social. Estudos realizados no país nas décadas de 80 e 90, apresentavam dados essencialmente da forma disseminada da doença, em pacientes com Aids, uma vez que esta era a forma mais comum apresentada por esse tipo de paciente. Alguns desses estudos contemplavam também a identificação de espécies. Poucos são os registros na literatura nacional que avaliam o perfil clínico e epidemiológico dos pacientes comprometidos com doença pulmonar por MNT. Justifica-se então estudar e avaliar o perfil clínico e epidemiológico, identificar as espécies causadoras dessas infecções e analisar as interrelações de associação dessas características. No Ceará vale ressaltar ainda as seguintes observações:

- Um percentual de pacientes com diagnóstico de tuberculose em tratamento no estado do Ceará, na realidade são portadores de micobacteriose.
- O estado não realiza a tipagem de MNT. A identificação das espécies de MNT é processada em Laboratórios conveniados de outros estados.
- Existe uma grande diversidade de espécies de micobactérias não tuberculosas em pacientes suspeitos ou em tratamento de tuberculose.

- A Metodologia PRA (PCR – restriction endonuclease analysis) tem instrumental simples e protocolo já validados no Brasil e mostrou-se eficiente para a identificação de espécies de MNT com potencial para sua implantação rotineira em Laboratórios públicos e privados do Ceará.
- Estudos epidemiológicos e de aspectos clínicos de pacientes com doença pulmonar por MNT na população brasileira são escassos. No estado do Ceará até o momento não existem.

## **2.2 Hipóteses**

As hipóteses que fundamentam esse trabalho são:

- Existe uma grande diversidade de cepas de MNT em pacientes suspeitos ou em tratamento para doença pulmonar por essas micobactérias no estado do Ceará.
- A Metodologia de identificação da MNT através da análise dos produtos de digestão enzimática após amplificação por PCR (PRA - polymerase chain reaction-restriction enzyme analysis) é eficiente em nosso meio.
- Os dados epidemiológicos e clínicos dos pacientes diagnosticados como portadores de MNT, incluídos para tratamento no estado do Ceará são semelhantes aos descritos na literatura.

## **2.3 Objetivo geral**

- Conhecer os aspectos clínicos e epidemiológicos dos pacientes inscritos para tratamento para MNT e a diversidade de espécies de micobactérias não tuberculosas em pacientes com doença pulmonar por MNT do estado do Ceará.

### **2.3.1 Objetivos específicos**

- Identificar as espécies de micobactérias não tuberculosas causadoras de doença pulmonar e pleural em serviços de referência para tratamento de pacientes com doença por MNT do estado do Ceará.
- Avaliar a utilidade da metodologia PRA para identificação de MNT.
- Identificar as características clínicas e epidemiológicas dos pacientes com doença pulmonar por MNT inscritos para tratamento no estado do Ceará.
- Relacionar a associação da patogenicidade das cepas identificadas com as características clínicas e epidemiológicas.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Delineamento do estudo**

Realizou-se um estudo descritivo retrospectivo de pacientes com doença pulmonar por MNT identificada pela Metodologia PRA, tratados em ambulatório especializado de hospital terciário no período de 1998 a 2008.

### **3.2 Local de realização**

O estudo foi realizado no Hospital de Messejana (HM) e no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Ceará. A escolha do HM foi feita por ser essa unidade, a referência no estado para o tratamento de pacientes com diagnóstico de doença por MNT.

O Hospital de Messejana cujo nome oficial é Hospital Dr. Carlos Alberto Studart Gomes, fica situado no bairro de Messejana, daí o seu nome como popularmente é conhecido. Foi inaugurado em 1º de maio de 1933, sob o nome de Sanatório de Messejana com o objetivo de assistir com humanismo os pacientes tuberculosos do estado do Ceará. Em 1944, o tisiologista Dr. Carlos Alberto Studart Gomes assumiu a direção do Sanatório de Messejana que hoje empresta seu nome ao hospital. Ao longo dos anos, o hospital sofreu diversas transformações que

incorporaram novos serviços e tecnologias e, desde 1990, integra a rede de hospitais próprios da Secretaria da Saúde do Estado do Ceará, como um hospital de nível terciário e de referência em doenças cardíacas e pulmonares para os pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS). Essas transformações, no entanto, não afastaram o hospital do atendimento aos pacientes portadores de doenças pulmonares, inclusive em TB e ainda na atualidade mantém o reconhecimento pela alta qualidade dos serviços prestados na área de Pneumologia e Tisiologia. O Ambulatório de Tuberculose, inserido no Serviço de Pneumologia é referência estadual para os casos de TBMDR e de doença pulmonar por MNT da rede municipal e estadual e credenciado pelo Ministério da Saúde.

### **3.3 População de Estudo**

Foram elegíveis todos os pacientes com diagnóstico suspeito e confirmado de doença por MNT, com identificação da espécie por qualquer método, acompanhados no ambulatório especializado do hospital de Messejana no período de 1998 a 2008.

### **3.4 Seleção de pacientes**

#### **3.4.1 Critérios de inclusão e exclusão**

Foram incluídos todos os pacientes com doença pulmonar e pleural por MNT diagnosticados conforme os critérios publicados no documento da Sociedade Americana de Tórax (ATS) - 2007, e com a espécie de MNT identificada pela metodologia PRA, acompanhados no ambulatório especializado do hospital de Messejana no período de 1998 a 2008.

As seguintes condições foram consideradas como critérios de exclusão do estudo:

- ▶ Doença de outro sítio não pulmonar e pleural.
  
- ▶ Doença pulmonar sem confirmação micobacteriológica (ausência de material biológico: Escarro, LBA, líquido pleural ou qualquer outro espécime), ou com a espécie de MNT identificada por outro método e ausência de dados clínicos, radiológicos no prontuário dos pacientes.

### **3.5 Aspectos Éticos**

O projeto de pesquisa foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Walter Cantídio/UFC, cadastrado no CONEP e aprovado em 20/11/2006 (ANEXOB).

O estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque (1965) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983), Hong Kong (1989), Somerset Oeste-África do Sul (1996) e Edimburgo (2000) e a Resolução 196/96 e 251/97 do CNS-MS.

### **3.6 Protocolo Clínico de Estudo**

#### **3.6.1 Questionário clínico- epidemiológico**

Para cada paciente admitido no estudo era preenchido um questionário clínico-epidemiológico denominado de protocolo clínico (ANEXO A), contendo dados

peçoais, informes epidemiológicos, achados clínicos e resultados laboratoriais e radiológicos importantes relacionados ao diagnóstico e tratamento da doença.

As definições dos itens contidos no questionário utilizado foram as seguintes:

- Nome: identificação completa do paciente.
- Prontuário: número do prontuário do paciente
- Ano: ano do diagnóstico da doença.
- US: unidade sanitária inicial de encaminhamento para o hospital de Messejana para tratamento ou mesmo para diagnóstico.
- Município: município de procedência do paciente.
- Material: espécime biológico utilizado para isolamento da micobactéria, escarro, líquido pleural e lavado broncoalveolar (LBA).
- Número de amostras: foram utilizados os critérios da ATS (2007) para o estabelecimento do diagnóstico de doença por MNT. A classificação teve por base o número de amostras nas quais se obteve a cultura positiva para colônias de micobactérias não tuberculosas (CMNT).
- Profissão: descrição da profissão ou ocupação do paciente conforme risco biológico de contrair a doença. Com risco biológico, sem risco biológico.
- Bairro: bairro de residência do paciente.
- Residência fora: referência de ter residido fora do município onde residia atualmente pelo paciente.
- Renda familiar: renda da família, descrita em salários mínimos.
- MNT: espécie de micobactéria não tuberculosa isolada pela metodologia PRA.
- Idade: idade do paciente em anos na época do diagnóstico.
- Sexo: sexo do paciente; feminino ou masculino.
- Historia de Tuberculose: história pregressa ou anterior do paciente de ter apresentado tuberculose; sim ou não.
- Doença associada: foi descrita se patologia presente concomitante ou anterior ao atual quadro do paciente, conforme registro no prontuário; sim ou não e também descritiva.



- Tratamento para MNT: registrou-se o número de alterações do esquema terapêutico durante o tratamento para MNT independente do motivo da modificação.
- Escolaridade: grau de escolaridade do paciente; analfabeto, fundamental, médio ou superior.
- Situação: desfecho do caso de cada paciente ocorrido até o final do estudo; curado, em tratamento (tratamento ainda não concluído), transferido, abandono ou óbito.
- TT: resultado do teste tuberculínico em mm quando realizado pelo paciente; positivo ou reator ( $> 5\text{mm}$ ), negativo ou não reator ( $< 5\text{mm}$ ) ou sem registro.
- HIV: resultado do teste sorológico para Aids realizado pelo paciente; positivo, negativo ou sem registro.
- Radiografia de Tórax e/ou Tomografia Computadorizada (TC) de tórax: descrição dos achados radiológicos do tórax na radiografia e/ou tomografia computadorizada, conforme laudo registrado no prontuário. (cavidade, fibrose, bronquiectasia, nódulos, opacidade, infiltrado, dor torácica, derrame pleural, enfisema e outros).
- Sintomas: queixas sintomáticas registradas em prontuário do paciente; divididas em sintomas gerais (febre, emagrecimento, adinamia, anorexia e outros) e respiratórios (tosse, expectoração, dispnéia, hemoptise e outros).
- Fumo: referência ao uso de fumo pelo paciente; sim, não ou sem registro.
- Álcool: referência de uso de álcool pelo paciente; sim, não ou sem registro.

### **3.6.2 Diagnóstico de doença pulmonar por MNT**

O diagnóstico de doença pulmonar por MNT dos pacientes em estudo foi baseada em critérios clínicos, radiológicos e microbiológicos.

#### **3.6.2.1 Critérios Clínicos e Radiológicos**

O diagnóstico de doença pulmonar por MNT foi estabelecido com base nos critérios da ATS 2007. Buscaram-se no prontuário dos pacientes selecionados, registros de sintomas respiratórios e gerais à época do diagnóstico. Todos os pacientes haviam sido submetidos a exame radiológico do tórax PA e perfil e/ou tomografia computadorizada de tórax e também haviam realizado exame de escarro para fins de diagnóstico de doença pulmonar por MNT.

Os exames de imagem foram realizados no Serviço de Radiologia do HM/SESA, por técnico do próprio hospital e interpretados por radiologista do serviço de radiologia. O registro dos achados radiológicos foi obtido a partir da análise do laudo das radiografias de tórax PA e perfil e/ou tomografias computadorizadas de tórax.

### **3.6.2.2 Critérios microbiológicos**

Todos os pacientes inscritos no ambulatório tinham seu material biológico (escarro, LBA e líquido pleural) encaminhado para o Laboratório Central do estado do Ceará – LACEN/CE, após a confirmação do crescimento de colônias de micobactérias em cultura, no laboratório do próprio hospital de Messejana. No LACEN as amostras clínicas foram processadas para o cultivo primário em meio Löwestein-Jensen (LJ) puro e em Löwestein-Jensen acrescido do agente inibidor ácido para-nitrobenzóico (PNB) que é uma prova bioquímica para identificação de micobactérias não tuberculosas. As micobactérias do complexo *M. tuberculosis* não apresentam crescimento na presença do agente inibidor PNB, enquanto as MNT crescem em PNB. Todas as amostras clínicas dos pacientes com MNT foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia, setor de Micobactéria da Universidade Federal do Ceará para a identificação da MNT pelo método PRA.

Uma vez as amostras clínicas chegassem ao laboratório da UFC eram subcultivadas em meio Löwenstein-Jensen até crescimento visível de colônias em sua superfície para em seguida realizar os estudos moleculares nas seguintes etapas:

### 3.6.2.2.1 Extração de DNA das amostras

Esta etapa foi realizada em capela de fluxo laminar, tipo II b, de nível de segurança 3. O DNA cromossômico foi extraído de uma suspensão de micobactérias empregando a técnica de Leão et al. (2004). As amostras em meio Löwenstein-Jensen foram centrifugadas a 5000rpm durante 20 minutos em centrífuga refrigerada a 20 graus centígrados. O sobrenadante foi desprezado e o sedimento foi lavado com 20ml de PBS e novamente centrifugado nas mesmas condições anteriores. O sobrenadante mais uma vez foi desprezado e o sedimento ressuspenso em 200microlitros de PBS foi transferido para um tubo eppendorf de 1,5mL. As colônias foram aquecidas a 100°C por 10 minutos a fim de inativá-las. Após a inativação as amostras foram centrifugadas durante 5 minutos em centrífuga refrigerada a 20 graus centígrados. O sobrenadante foi retirado e o sedimento foi lavado com salina a 3%. Após a lavagem as micobactérias foram submetidas a extração do DNA. A seguir os tubos contendo DNA genômico dispersos no sobrenadante e material celular no sedimento eram estocados a -20 graus até o momento do uso nas reações de PCR (TELENTI et al., 1993).

### 3.6.2.2.2 Amplificação das amostras por PCR

A técnica utilizada se baseiou na amplificação do gene *hsp65* realizada com os iniciadores Tb 11 e Tb 12 (INVITROGEN). Para a mistura de PCR necessária à amplificação foram utilizados 5µL de tampão 10X específico para a enzima Taq polimerase, 2µL de solução de dNTPs a 5mM, 2,5µL de DMSO, 3,0µL de cada iniciador, TB11(5'- ACCAACGATGGTGTGTCCAT-3') e TB12 (5'- CTTGTCTGAACCGCATACCCT-3') (STEINGRUBE et al.,1995), com produto estimado de 441 pb, e 1µL da enzima Taq DNA polimerase. Dez microlitros do DNA de cada amostra previamente centrifugados foram adicionados a 16,5µL do mix em

tubos de 0,2mL, formando um volume final de 50µL e colocados no termociclador GeneAmp PCR System 9700 (PE Applied Biosystems).

As reações ocorreram nas seguintes condições: desnaturação inicial a 95°C por 1 minuto, seguido de 45 ciclos de: desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 65°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto, seguido de extensão final a 72°C por 7 minutos (LEÃO et al., 2004).

Os produtos da reação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 0,6%, preparado em 100mL de tampão TBE 1X (tampão tris-borato EDTA). Ao gel foram adicionados 6µl de brometo de etídio. Aos produtos foram adicionados 3µL do tampão de carregamento Loading Buffer a fim de dar cor e aumentar a densidade das amostras. A duração da corrida foi de 40 minutos em 70V. Ao término da corrida eletroforética, as bandas de DNA foram visualizadas em transiluminador sob luz Ultra-Violeta e digitalizadas em equipamento ImageQuant 300 (GE Healthcare).

### **3.6.2.2.3 Digestão enzimática (RFLP) e identificação das amostras**

Para a reação com as enzimas de endorrestricção foram aliqotados dois volumes de 20µL do produto de PCR de cada amostra, para cada uma das duas enzimas a serem utilizadas. Este volume foi transferido para tubos de 0,2mL, e a eles foram adicionados 3µL do tampão específico (buffer R 10x para *HaeIII* e buffer O 10x para *BstEII*) para cada enzima, 2µL da enzima de digestão e 5µL de água ultrapura esterilizada, para um volume final de 30µL. As amostras a serem digeridas pela *HaeIII* foram incubadas a 37°C por 18h, e as amostras a serem digeridas pela *BstEII* foram incubadas a 60°C por 18h. A combinação dos fragmentos das enzimas *BstEII* e *HaeIII* estão listadas no quadro abaixo. Quadro 3.

### **Quadro 3. padrão dos fragmentos de digestão das enzimas *BstEII* e *HaeIII***

| <i>BstE</i> I         | <i>Ha</i> eIII    |
|-----------------------|-------------------|
| 5'...G'G T A C C...3' | 5'...G G'C C...3' |
| 3'...C C A T G'G...5' | 3'...C C'G G...5' |

A corrida eletroforética das amostras digeridas foi realizada em 1,2g de gel de agarose 1000 (invitrogen) feito com 100mL de tampão TBE 1X e 10µL de brometo de etídio a 10mg/mL. Para dar cor às bandas de DNA foram acrescentados às amostras digeridas 7 µL de tampão de carregamento Loading Buffer. A duração da corrida foi de 2h em 110V. Para o cálculo do número e do tamanho dos fragmentos, usaram-se como referência os marcadores moleculares de 25pb e 100pb, respectivamente, nas bordas e no centro do gel e as imagens foram capturadas no transiluminador. A identificação foi finalizada comparando-se os tamanhos dos fragmentos com os algoritmos descritos por Leão et al. (2004) (ANEXO E) e pelo site PRASITE (<http://app.chuv.ch/prasite/index.html>) (CHIMARA et al., 2008). O quadro 4 mostra o padrão de bandas de digestão da espécie *M. lentiflavum* encontrada neste trabalho.

**Quadro 4. padrão de bandas das enzimas de endorrestricção para *M. lentiflavum*.**

| Organism                         | <i>BstE</i> I pattern | <i>Ha</i> eIII pattern |
|----------------------------------|-----------------------|------------------------|
| <i>Mycobacterium lentiflavum</i> | 440 / 0 / 0           | 145 / 130 / 0 / 0      |

### 3.6.3 Esquema geral do projeto



para MNT em cultura em pelo menos duas amostras sucessivas; Encaminhamento desse material para o Laboratório de Microbiologia da UFC para processamento e identificação da MNT pela metodologia PRA.

### **Segundo período**

Localização dos prontuários de acordo com o Nº de ordem das amostras identificadas com os registros dos pacientes atendidos no ambulatório especializado para tratamento de pacientes com doença pulmonar por MNT no HM; Leitura e coleta de dados clínicos, radiológicos e demográficos nos prontuários.

#### **3.6.4 Análise estatística**

O estudo contou com assessoria estatística para a etapa de análise e avaliação dos resultados. A análise dos dados, após entrada processada por pesquisador em planilha Excel version 4.0; Microsoft; Seattle, WA, foi realizada usando os *softwares* SPSS 19 e o software *livre* R 2.12.0, disponível para download em [www.r-project.org](http://www.r-project.org).

Foi realizada análise univariada, através da verificação das frequências e cálculo das medidas de localização central e de dispersão para cada variável isoladamente. Os resultados foram expressos através de análise descritiva dos dados obtidos e apresentados em frequências absolutas e percentuais simples.

As análises de associações foram feitas utilizando o teste não-paramétrico de Pearson e o teste paramétrico da razão de verossimilhanças, baseado no produto de distribuições binomiais/multinomias, utilizando um

intervalo de confiança de 95%. A análise do Qui-quadrado foi utilizada para comparação entre as variáveis. Diferenças entre os grupos ou correlações foram consideradas significantes quando  $p < 0,05$ .

## **4 RESULTADOS**

### **4.1 Esquema Geral de Seleção dos Pacientes**

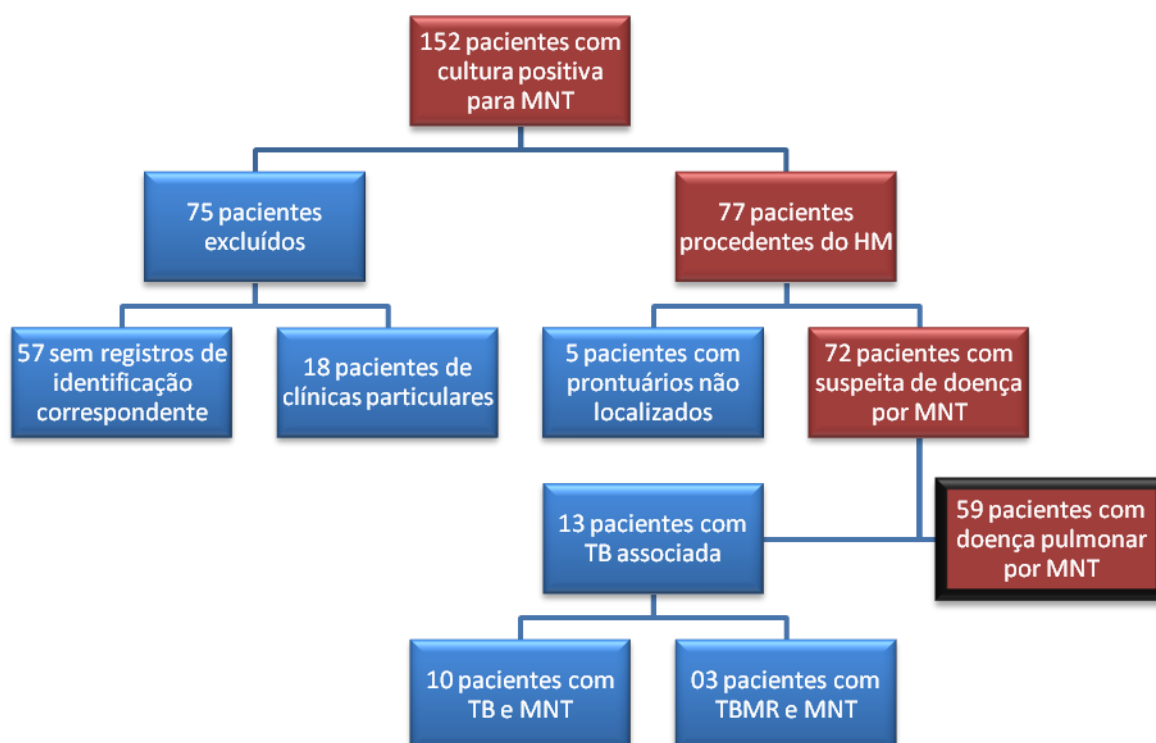
Foram identificadas 152 culturas positivas para MNT em espécimes biológicos de diferentes pacientes encaminhadas ao LACEN no período de Julho de 1998 à Junho de 2008. Em 57 culturas positivas não foi possível encontrar número de prontuário correspondente aos registros provenientes do LACEN. Dezoito amostras eram escarros de pacientes atendidos em consultórios particulares, o que inviabilizou a busca. As 77 amostras restantes eram todas de pacientes procedentes do Hospital de Messejana. Em 05 não foi possível localizar os prontuários na Unidade Hospitalar, pois segundo informações estavam no arquivo morto sem possibilidade de recuperação para análise.

Setenta e duas culturas positivas correspondiam a pacientes suspeitos de doença por MNT, atendidos no ambulatório especializado em TB do Hospital de Messejana. Foram analisados os 72 prontuários de pacientes

com cultura positiva para MNT incluídas nos registros do LACEN e que tiveram a identificação da MNT pela metodologia PRA. Treze pacientes foram excluídos do estudo; em dez pacientes havia associação MNT e TB, em três deles associação MNT e TBMR, já em tratamento no ambulatório de TBMR. O prontuário de cada paciente foi analisado preliminarmente em busca da confirmação diagnóstica de doença pulmonar por MNT segundo os critérios da ATS 2007. Cinquenta e nove pacientes foram selecionados e seus prontuários revisados para o registro das informações demográficas, epidemiológicas, clínicas e radiológicas de acordo com o Protocolo clínico (Anexo A). Informações adicionais de alguns casos foram colhidas no Hospital São José de Doenças Infecciosas, em algumas Unidades Básicas de Saúde do Município e/ou do Estado, em boletins de encaminhamento quando anexados aos respectivos prontuários e nos arquivos do LACEN. Figura 10.

**Figura 10. Fluxograma de seleção dos pacientes encaminhados ao ambulatório de MNT do Hospital de Messejana.**





## 4.2 Características Demográficas e Sociais

### 4.2.1 Encaminhamento e Ano do Diagnóstico

Quarenta e um pacientes (69,5%) haviam sido atendidos primariamente no Ambulatório do Hospital de Messejana, 8 (13,6%) encaminhados dos Centros de Saúde do Município, 5 (8,5%) oriundos do Hospital São José de Doenças Infecciosas e outros 5 pacientes, encaminhados de outras unidades de saúde. Todos os pacientes fizeram ou faziam acompanhamento no ambulatório de doença pulmonar por MNT do Hospital de Messejana.

Mais da metade dos 59 pacientes analisados tiveram a doença diagnosticada nos anos de 2006 e 2007. Figura 11.

**Figura 11. Distribuição dos pacientes segundo o ano do diagnóstico da doença.**

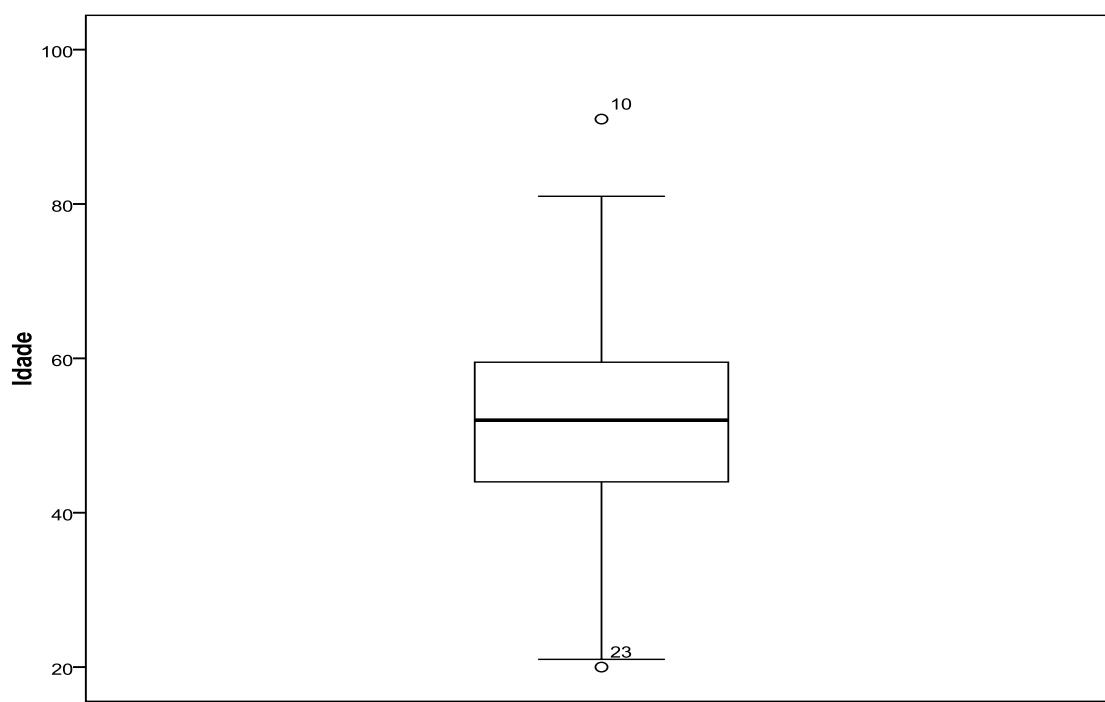


Observou-se um aumento no número de diagnósticos da doença pulmonar por MNT a partir de 2005. Mais da metade dos 59 (55,23%) pacientes analisados, teve a doença diagnosticada nos anos de 2006 e 2007. Os resultados mostraram tendência crescente no número de casos de doença pulmonar por MNT nos dez anos.

#### **4.2.2 Sexo, idade, escolaridade, renda e hábitos sociais**

Dos 59 pacientes estudados, 37 (62,7%) eram do sexo masculino com idade variando dos 20 aos 81 anos. Vinte e dois (37,3%) pacientes eram do sexo feminino com idade variando dos 22 aos 91 anos. A média de idade do grupo estudado foi de 50,4 anos, com desvio-padrão de 16,1. Figura 12.

**Figura 12. Boxplot da idade dos pacientes com doença pulmonar por MNT na época do diagnóstico.**



A média de idade  $\pm$  dp do grupo estudado foi de  $50,4 \pm 16,1$  anos. A distribuição das idades dos pacientes mostrou indício de simetria, além da presença de duas idades discrepantes: 91 anos e 20 anos. O desvio-padrão da média em 16,1 anos com respectivo coeficiente de variação de 32% indicou variabilidade moderada com respeito à idade.

Aproximadamente 62% dos pacientes analisados tinham estudado até no máximo o ensino fundamental e 58% tinham renda familiar inferior a um salário mínimo. A distribuição dos pacientes segundo a história de tabagismo e uso de bebida alcoólica mostrou que o uso de bebida alcoólica apresentado,

49,2% foi superior ao à história de tabagismo, observado em 40,6%. As características demográficas e sociais dos pacientes estudados estão apresentadas na tabela1.

**Tabela 1- Distribuição das características demográficas e sociais de pacientes com doença pulmonar por MNT estudados no HM no período de 1988 a 2008.**

| Características                   | Nº  | %    |
|-----------------------------------|-----|------|
| <b>Idade:</b>                     |     |      |
| ≤30 anos                          | 11  | 18,6 |
| 31 a 60 anos                      | 34  | 57,6 |
| 61 a 90 anos                      | 13  | 22,0 |
| >90 anos                          | 01  | 1,7  |
| <b>Sexo:</b>                      |     |      |
| Feminino                          | 22  | 37,3 |
| Masculino                         | 37  | 62,7 |
| <b>Grau de Escolaridade:</b>      |     |      |
| Analfabeto                        | 07  | 11,9 |
| Fundamental                       | 30  | 50,8 |
| Médio                             | 22  | 37,7 |
| Superior                          | 0,0 | 0,0  |
| <b>Renda:</b>                     |     |      |
| < = 1 Salário mínimo              | 43  | 72,9 |
| > 01 Salário mínimo               | 16  | 27,1 |
| <b>História de uso de Fumo:</b>   |     |      |
| Sim                               | 24  | 40,7 |
| Não                               | 35  | 59,3 |
| <b>História de uso de Álcool:</b> |     |      |
| Sim                               | 29  | 49,2 |
| Não                               | 30  | 50,9 |

#### 4.2.3 Profissão

Foi observado inicialmente que os pacientes estudados apresentaram uma grande diversidade de profissões. Com o intuito, de facilitar

a análise dos dados, foi realizado então, um trabalho de categorização das profissões. A base de consulta utilizada foi encontrada na página eletrônica [www.fenprof.pt/Download/.../Definicaodefunesecatprof.pdf](http://www.fenprof.pt/Download/.../Definicaodefunesecatprof.pdf), visitada em 08/04/2011. Após a divisão em categorias, as profissões foram então incluídas em 02 grupos, conforme o risco de contato oferecido com fontes potencialmente reconhecidas como reservatório de MNT (solo e fontes de águas naturais ou tratadas de diversas fontes) segundo os estudos de Falkinham III, 1996. Assim os pacientes pertencentes ao grupo 1, foram considerados expostos ao risco biológico de contrair MNT e no grupo 2 foram incluídos os pacientes sem risco biológico. Tabela 2.

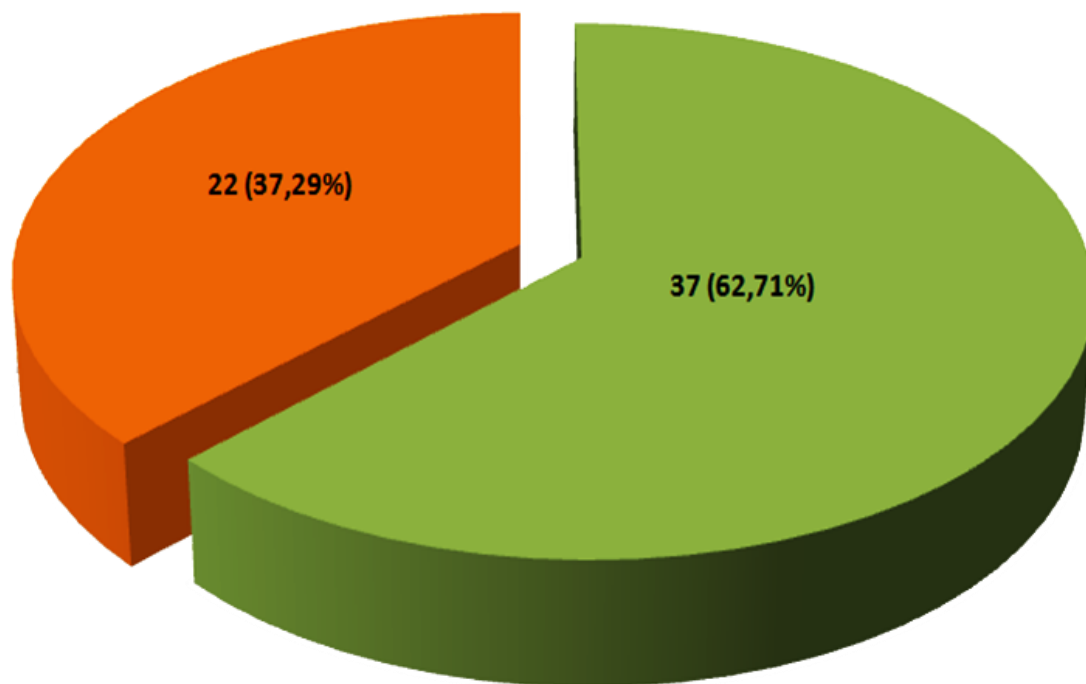
**Tabela 2- Classificação das profissões por categoria de risco biológico.**

| Grupo 1<br>Atividade com risco biológico |    | Grupo 2<br>Atividade sem risco biológico |    |
|--|----|--|----|
| Profissão                                | Nº | Profissão                                | Nº |

|                     |           |                        |           |
|---------------------|-----------|------------------------|-----------|
| Atividade rural     | 2         | Estudante              | 1         |
| Auxiliar de cozinha | 1         | Vendedor               | 1         |
| Bombeiro            | 2         | Sapateiro              | 1         |
| Doméstica           | 18        | Motorista              | 1         |
| Faxineira           | 1         | Aposentados            | 5         |
| Garçonete           | 1         | Desempregados          | 3         |
| Gari                | 1         | Porteiro               | 1         |
| Pedreiro            | 4         | Vigilante              | 1         |
| Pintor              | 2         | Eletricista            | 1         |
| Serviços gerais     | 3         | Caixa                  | 1         |
|                     |           | Auxiliar de escritório | 1         |
|                     |           | Securitário            | 1         |
|                     |           | Servidor público       | 1         |
|                     |           | Gráfico                | 1         |
|                     |           | Comerciário            | 1         |
|                     |           | Autônomo               | 3         |
| <b>Subtotal</b>     | <b>35</b> |                        | <b>24</b> |
| <b>Total:</b>       |           | <b>59</b>              |           |

A figura 13 mostra a distribuição dos pacientes conforme o risco biológico.

**Figura 13. Distribuição dos pacientes segundo o risco biológico de contrair infecção por MNT de acordo com a atividade profissional (n=59).**

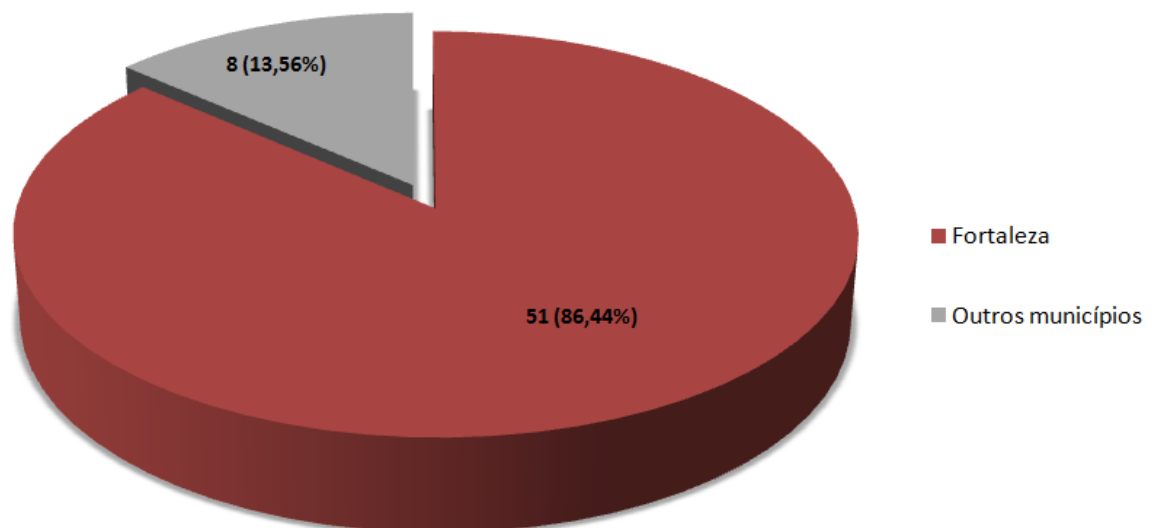


Trinta e sete (62,7%) pacientes exerciam atividade profissional com risco biológico de contrair MNT. Vinte e dois (37,3%) pacientes não apresentaram risco de contrair MNT nas atividades profissionais desenvolvidas.

#### 4.2.4 Procedência

A análise da procedência da população estudada mostrou que 51 (86%) pacientes eram oriundos da cidade de Fortaleza e 08 (13,7%) pacientes eram oriundos de outros municípios do estado. Dentre os pacientes oriundos de outros municípios, 02 residiam em municípios da região metropolitana: Caucaia e Horizonte; e os demais pacientes, 06, eram provenientes das demais regiões do estado: Cascavel, Ipu, Camocim, Iguatu, Alto Santo e Croatá. Figura 14.

**Figura 14. Distribuição dos pacientes segundo a procedência.**

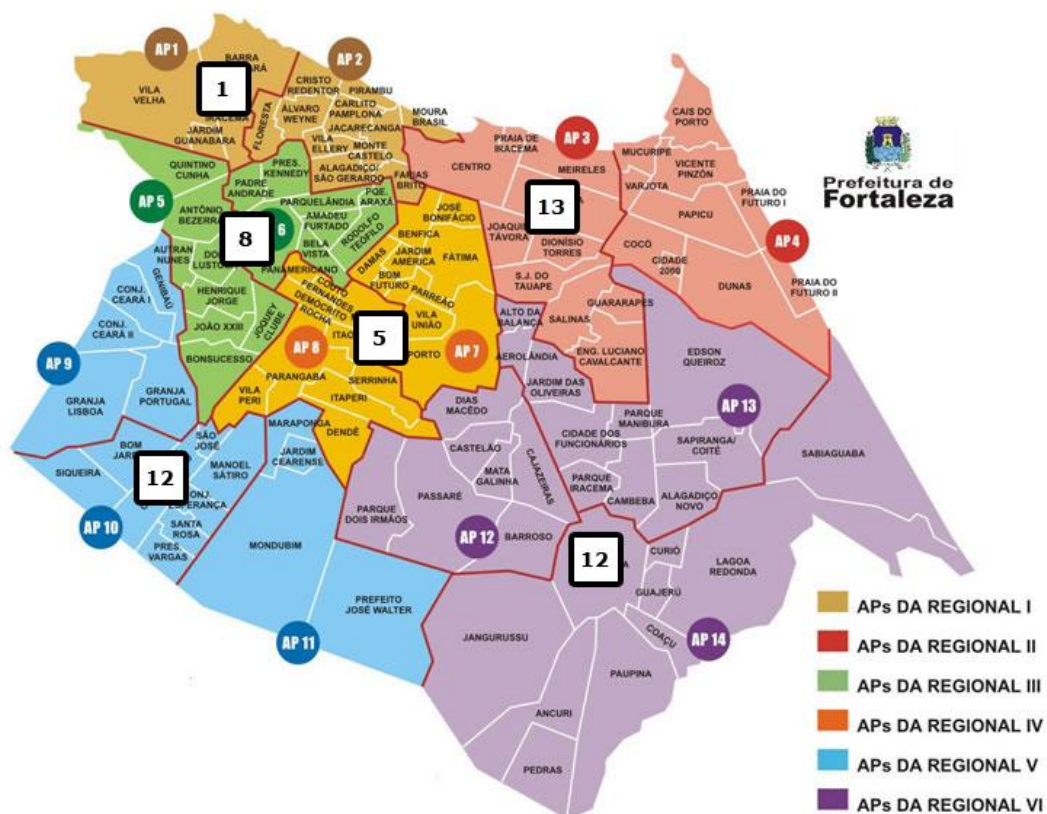


A maioria dos pacientes 51(86,4%) analisados é oriunda da cidade de Fortaleza.



A distribuição demográfica dos pacientes residentes em Fortaleza é mostrada na figura 15. A apresentação teve por base a atual estruturação física e administrativa da cidade de Fortaleza, que por decisão da Prefeitura, desde 1997 adota um modelo de gestão municipal, que tem como principal característica a descentralização das atividades executivas. Para isso a cidade foi dividida em seis regiões, denominadas de Secretarias Executivas Regionais (SER). Essas Secretarias são responsáveis pela coordenação de diversos serviços especializados sediados na abrangência de sua região e pelas equipes multiprofissionais encarregadas pela manutenção da infra-estrutura urbana.

**Figura 15. Distribuição dos pacientes conforme a Secretaria Regional Municipal a que pertencia o bairro de residência.**



Fonte: Prefeitura Municipal de Fortaleza.

As Regionais II (25%), V (23,53%) e VI (23,53%) foram responsáveis pela maioria dos casos, totalizando 37 (72,55%) pacientes. A regional II conforme dados da prefeitura tem 325 mil moradores e sua principal característica é o grande adensamento comercial e de serviços, sendo responsável por importante fatia da arrecadação municipal, e grande circulação de pessoas. A regional V tem 570 mil habitantes, é a segunda maior regional em população e é caracterizada por grande carência de infraestrutura urbana. A SER VI é a maior em território, correspondendo a 42% do território de Fortaleza, detém também o maior contingente em população, com 600 mil habitantes. A exemplo da regional V seu território é caracterizado por carências sociais e de infraestrutura.

### 4.3 Associação dos parâmetros demográficos e sociais

#### 4.3.1 Profissão e Sexo

Tabela 3- Distribuição: Profissão dos pacientes Vs. Sexo.

| PROFISSÃO           | SEXO       |            | TOTAL |
|---------------------|------------|------------|-------|
|                     | FEMININO   | MASCULINO  |       |
| Sem risco biológico | 1 (4,5%)   | 21 (95,5%) | 22    |
| Com risco biológico | 21 (56,8%) | 16 (43,2%) | 37    |
| <b>Total</b>        | 22         | 37         | 59    |

**P = 0,001**

Observou-se que dentre os pacientes que exerciam atividades com risco biológico, 56,8% eram do sexo feminino, enquanto naqueles que exerciam atividade sem risco biológico, 95,5% eram do sexo masculino,

evidenciando uma associação significativa entre profissão com risco biológico e sexo no grupo de pacientes estudados.

#### 4.3.2 Profissão e Procedência

**Tabela 4- Distribuição: Profissão Vs. Procedência.**

| PROFISSÃO           | PROCEDÊNCIA       |                   | TOTAL     |
|---------------------|-------------------|-------------------|-----------|
|                     | FORTALEZA         | OUTROS MUNICÍPIOS |           |
| Sem risco biológico | 22 (91,7%)        | 2 (8,3%)          | 24        |
| Com risco biológico | 29 (82,9%)        | 6 (17,1%)         | 35        |
| <b>Total</b>        | <b>51 (86,4%)</b> | <b>8 (13,6%)</b>  | <b>59</b> |

**P = 0,285**

Dentre os pacientes que exerciam atividades sem risco biológico, 91,7% eram oriundos de Fortaleza, enquanto que para os pacientes que exerciam atividades com risco biológico, esse percentual foi 82,9%. Não evidenciando uma associação significativa entre profissão e procedência.

### 4.3.3 Profissão e renda familiar

**Tabela 5- Distribuição dos pacientes conforme profissão e renda familiar (em salários mínimos).**

| PROFISSÃO           | RENDA FAMILIAR                   |                             | TOTAL |
|---------------------|----------------------------------|-----------------------------|-------|
|                     | Menor ou igual 01 Salário Mínimo | Maior que 01 Salário Mínimo |       |
| Sem risco biológico | 13 (54,1%)                       | 11 (45,8%)                  | 24    |
| Com risco biológico | 30 (85,7%)                       | 5 (14,3%)                   | 35    |
| <b>Total</b>        | 43 (72,9%)                       | 16 (27,1%)                  | 59    |

**P=0,025**

Observou-se que dentre os pacientes que exerciam atividades sem risco biológico, 54,1% tinham renda familiar de no máximo 01 salário mínimo. Nos pacientes que exerciam atividades com risco biológico, esse percentual foi de 85,7%, evidenciando uma associação significativa entre profissão com risco biológico e baixa renda familiar nos pacientes estudados (P= 0,025).

## 4.4 Características clínicas e radiológicas

As características clínicas estudadas foram: Sintomas respiratórios e sistêmicos, História previa de tuberculose, Doenças Associadas, Teste tuberculínico, Sorologia HIV, Achados radiológicos e Desfecho.

#### 4.4.1 Sintomas

A pesquisa de sintomas foi dividida em 02 grupos, sintomas respiratórios e sintomas sistêmicos. Tabelas 7 e 8.

**Tabela 6- Distribuição dos pacientes segundo a presença de sintomas respiratórios.**

| Sintomas               | Nº de pacientes | %    |
|------------------------|-----------------|------|
| <b>Tosse</b>           | 54              | 91,5 |
| <b>Expectoração</b>    | 43              | 72,9 |
| <b>Hemoptise</b>       | 16              | 27,2 |
| <b>Dispneia</b>        | 11              | 18,6 |
| <b>Outros sintomas</b> | 3               |      |
| Dor torácica           | 2               | 3,4  |
| Sibilos                | 1               | 1,7  |

Todos os pacientes estudados eram sintomáticos respiratórios. Os sintomas mais frequentemente observados foram tosse (91,5%) e expectoração (72,9%), seguidos pela hemoptise observada em 16 (27,2%) pacientes. A dispnéia foi referida por 11 (18,6%) pacientes, em 02 deles foi classificada como dispnéia grave. Outros sintomas foram referidos em 5% dos pacientes; dois pacientes referiram dor torácica, 01 entre eles apresentava derrame pleural e teve a identificação da MNT no líquido pleural. O sintoma menos frequente foram os sibilos, observado em 01 (1,7%) paciente.

**Tabela 7- Distribuição dos pacientes segundo a presença de sintomas sistêmicos.**

| Sintomas               | Nº de pacientes | %    |
|------------------------|-----------------|------|
| <b>Emagrecimento</b>   | 16              | 27,1 |
| <b>Febre</b>           | 8               | 13,6 |
| <b>Adinamia</b>        | 8               | 13,6 |
| <b>Outros sintomas</b> | 2               |      |
| <b>Anorexia</b>        | 1               | 1,7  |
| <b>Sudorese</b>        | 1               | 1,7  |

A presença de sintomas sistêmicos foi observada em 54% dos pacientes. O emagrecimento esteve presente em 16 (27,1%) pacientes e febre em 08 (13,6%) pacientes. A adinamia foi observada em 08 (13,6%) pacientes. A anorexia e sudorese foram os sintomas menos referidos, aparecendo em 01(1,7%) paciente respectivamente.

#### **4.4.2 História prévia de tuberculose pulmonar e Comorbidades**

Trinta e dois (54,2%) pacientes apresentaram história prévia de TB. Em vinte e dois 22 (37,3%) pacientes a história de TB estava ausente e em 05 (8,5%) pacientes não se observou registro em prontuário da variável.

Quanto à presença de comorbidades nos pacientes estudados, se observou que 31 (52,5%) não apresentaram comorbidades. Vinte e três (39%) pacientes apresentavam registros com presença de comorbidades e em 05 (8,5%) pacientes não havia registro em prontuário. Dentre as comorbidades

mais freqüentemente registradas destacaram-se: Hipertensão Arterial Sistêmica presente em 5 (21,7%) pacientes; Diabetes Mellitus presente em 4 (17,4%) pacientes e AIDS em 4 (17,4%), DPOC em 4 (17,4%).

Analisou-se a associação entre a presença de doenças associadas e o risco biológico de adoecimento por MNT decorrente da profissão no grupo de pacientes estudados. Os resultados estão apresentados na Tabela 9.

**Tabela 8- Distribuição: Profissão dos pacientes Vs. Comorbidades.**

| PROFISSÃO           | COMORBIDADES |            |              | TOTAL |
|---------------------|--------------|------------|--------------|-------|
|                     | Ausência     | Presença   | Sem registro |       |
| Sem risco biológico | 18 (75,0%)   | 6 (25,0%)  | 0            | 24    |
| Com risco biológico | 13 (37,1%)   | 17 (48,6%) | 5 (14,3%)    | 35    |
| <b>Total</b>        | 31 (52,5%)   | 23 (39,0%) | 5 (8,5%)     | 59    |

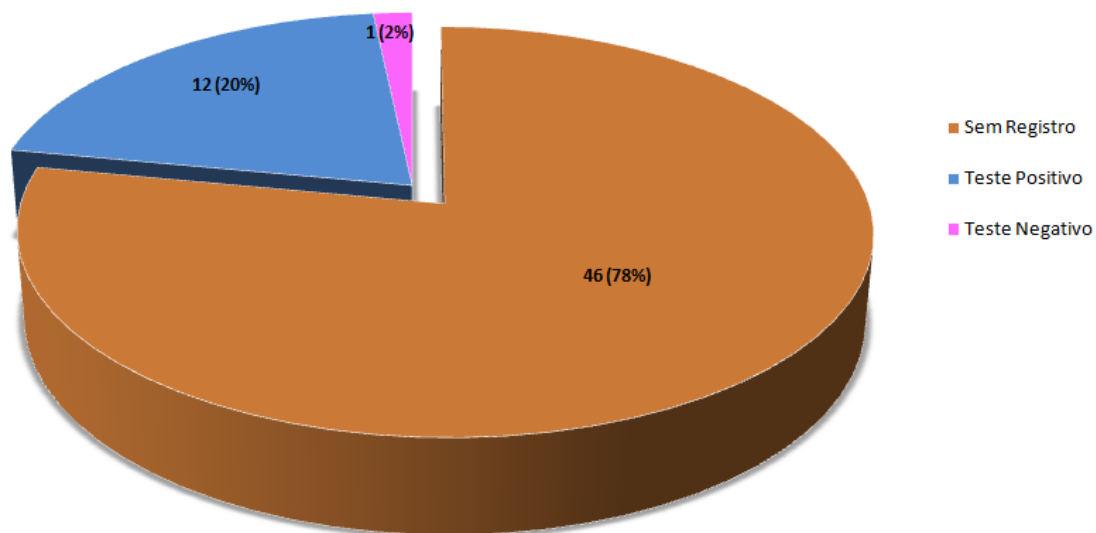
**P= 0,009**

Observou-se que entre os pacientes que exerciam atividades sem risco biológico, 75% não apresentavam presença de comorbidades. Nos pacientes que exerciam atividades com risco biológico, esse percentual foi de 37,1%, evidenciando uma associação significativa entre doença associada e profissão no grupo de pacientes estudados (p= 0,009).

#### 4.4.3 Teste Tuberculínico

Quanto ao teste tuberculínico, poucos registros foram observados na maioria dos prontuários. Figura 16.

**Figura 16. Distribuição dos pacientes segundo resultado do teste tuberculínico.**

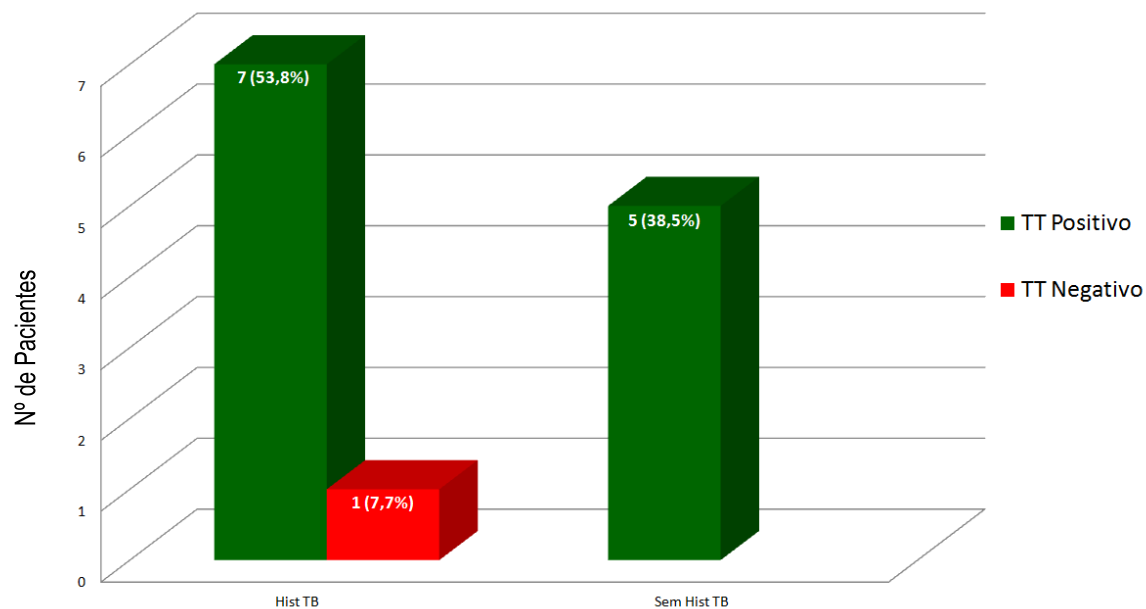


A maioria dos pacientes, 46 (78%) não apresentava registro da realização do teste tuberculínico. Treze (22%) pacientes realizaram o teste; Dos 13, 12 (92,3%) apresentaram o teste positivo. A média da enduração registrada foi 11,8 mm com variação de 20 a 06 mm. Um paciente apresentou teste negativo.

A associação entre o teste tuberculínico e história prévia de tuberculose foi analisada. Figura 17.



**Figura 17. Frequência de positividade ao teste tuberculínico em relação à história prévia de tuberculose em pacientes com doença por MNT (n=13)**

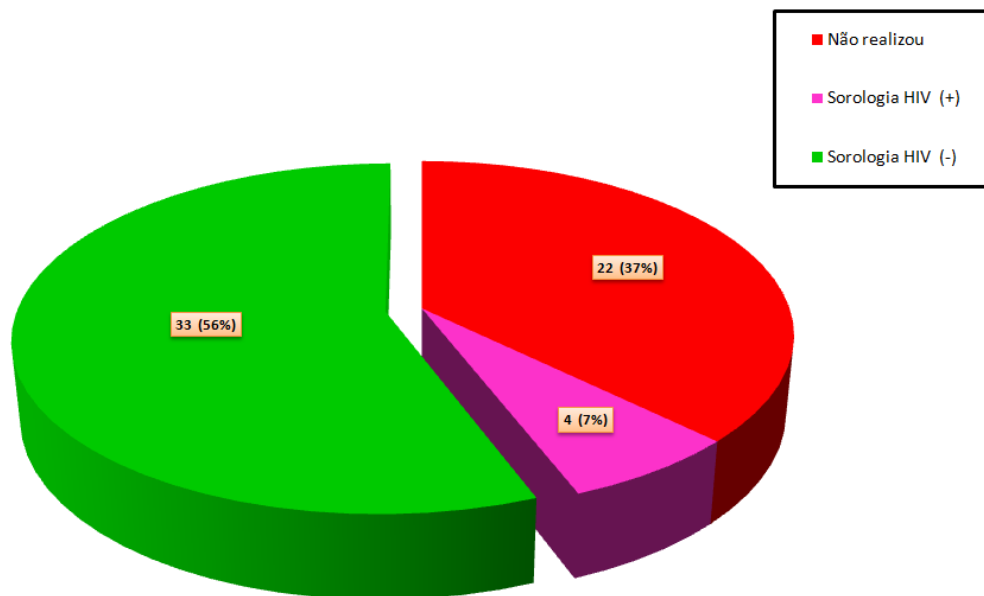


Dos 13 pacientes que realizaram o teste tuberculínico, 12 (92%) apresentaram o teste positivo; Dentre esses pacientes com o teste positivo, 07 (58%) haviam relatado história prévia de tuberculose. Nesses pacientes a média do teste tuberculínico foi 12,1mm com variação de 7 a 20 mm. Nos 05 pacientes que apresentaram teste tuberculínico positivo e não relataram história prévia de tuberculose a média do teste foi 12,2mm com variação de 8 a 18 mm. O único paciente, dentre os 13, com teste tuberculínico negativo tinha história prévia de tuberculose.

#### 4.4.4 Sorologia anti HIV

A análise da variável é mostrada na figura 18.

**Figura 18. Frequência de Sorologia anti HIV no grupo de pacientes com doença pulmonar por MNT (N= 59)**



Trinta e sete (62,7%) pacientes realizaram o teste. Trinta e três (89%) pacientes apresentaram sorologia negativa para HIV; Quatro (12%) pacientes apresentaram sorologia positiva.

#### 4.4.5 Achados Radiológicos

Os achados radiológicos foram obtidos através da leitura dos laudos de Radiografia e tomografia computadorizada do tórax quando presentes nos prontuários e de alguns registros médicos. Tabela 9.

**Tabela 9- Distribuição dos pacientes segundo os achados radiológicos**

| Achados Radiológicos                | Nº de pacientes | %    |
|-------------------------------------|-----------------|------|
| <b>Fibrose</b>                      | 42              | 71,2 |
| <b>Cavidade</b>                     | 27              | 45,8 |
| <b>Bronquiectasia</b>               | 12              | 20,3 |
| <b>Infiltrado intersticial</b>      | 11              | 18,6 |
| <b>Opacidade de padrão alveolar</b> | 08              | 13,6 |
| <b>Nódulo</b>                       | 03              | 5,1  |
| <b>Outros achados</b>               | 9               |      |
| Hiperinsuflação                     | 1               | 1,7  |
| Enfisema                            | 3               | 5,1  |
| Atelectasia                         | 2               | 3,4  |
| Broncograma aéreo                   | 2               | 3,4  |
| Derrame pleural                     | 1               | 1,7  |

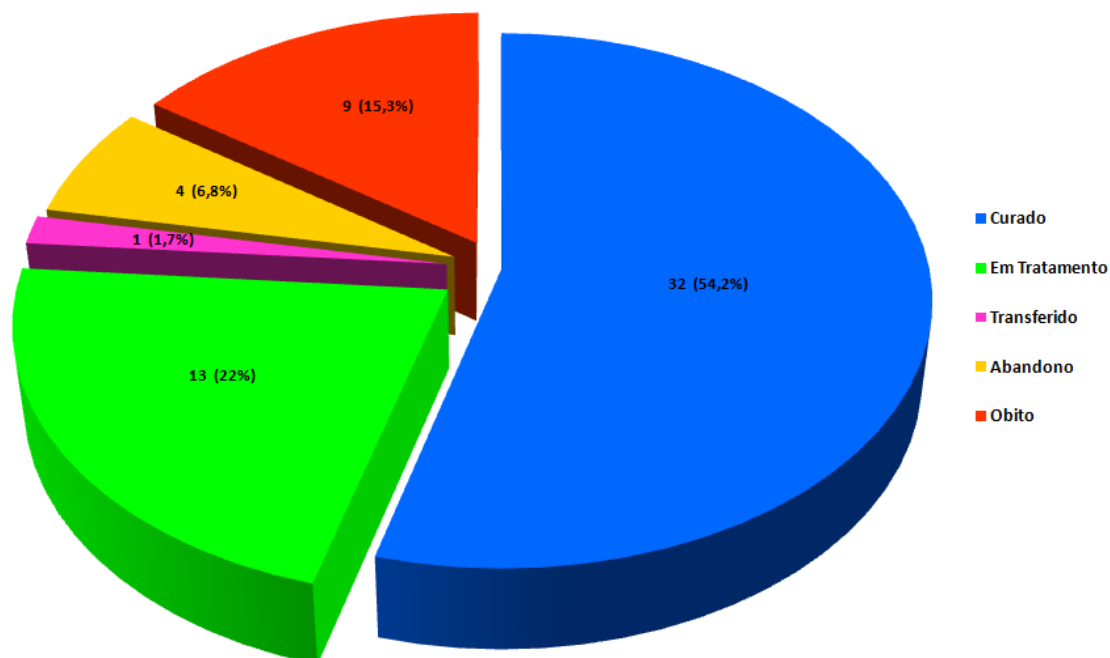
Dentre os achados radiológicos, a fibrose foi encontrada na maioria dos pacientes analisados 42 (71,2%). Já a cavidade foi observada em quase metade dos pacientes 27 (45,8%). Bronquiectasia foi observada em 12 (20,3%) pacientes. Os achados menos frequentes foram o derrame pleural e a hiperinsuflação, presentes em apenas 01 (1,7%) paciente para cada achado

radiológico. Em 02 (3,4%) pacientes a radiografia de tórax e a tomografia computadorizada foram normais. Os dois pacientes eram sintomáticos respiratórios, ambos apresentando tosse e expectoração de longa data associados a emagrecimento e febre.

#### 4.4.6 Desfecho

Embora o período de estudo do grupo de pacientes com doença pulmonar por MNT tenha sido definido de 1998 a 2008, a coleta de dados foi iniciada no final do ano de 2008. Os dados coletados quanto ao desfecho foram finalizados em Dezembro de 2010. Figura 19.

**Figura 19. Distribuição dos pacientes segundo desfecho do caso.**



Dos 59 pacientes analisados, 32 (54,2%) tiveram alta, curados; 13 (22%) pacientes continuavam em tratamento até o final da coleta de dados do estudo. Um (1,7%) paciente havia sido transferido para seu município de

origem, Iguatu município da região central do estado. Quatro (6,8%) pacientes haviam abandonado o tratamento e 09 (15,3%) haviam falecido. As causas dos óbitos registradas foram: 01 paciente com hemoptise maciça e 03 pacientes com infecções pulmonares bacterianas intercorrentes graves com insuficiência respiratória aguda. Nos demais casos, o óbito não havia sido no hospital de origem do estudo, portanto sem disponibilidade de registro.

Dentre os pacientes curados, 22 (68,7%) eram mulheres, e 10 (31,3%) eram do sexo masculino. Dentre os pacientes que não apresentavam comorbidades, 31, 52,5%, estavam curados até o final do estudo.

Nos pacientes com MNT potencialmente patogênica (n=45), 27 (60%) saíram curados do tratamento, enquanto apenas 05 (35,7%) pacientes com MNT raramente patogênica saíram curados.

Apesar do tratamento da doença pulmonar por MNT não fazer parte dos objetivos do presente estudo, foi observado que o esquema de tratamento utilizado no Ambulatório do Hospital de Messejana foi individualizado conforme a espécie isolada, obedecendo as orientações preconizadas pelo Ministério da Saúde. Entretanto, mudanças em relação à substituição de droga e ao tempo de tratamento, foram realizadas dependendo da evolução clínica particular de cada caso. A persistência dos sintomas pelos pacientes e a não negatização dos escarros de controle, foram as justificativas mais habitualmente encontradas nos registros de prontuários. A maioria dos pacientes 27 (45,76%) fez apenas 01 modificação no esquema inicial utilizado; Vinte e um (35,59%) pacientes fizeram 02 modificações e em 06 (10,16%) pacientes o curso do tratamento foi modificado pelo menos 4 vezes.

## 4.5 Avaliação das características biológicas das amostras estudadas

O material biológico coletado para pesquisa de Micobactéria foi o escarro em 57 (96,6%) dos 59 pacientes estudados. Em 02 (3,4%) pacientes foi utilizado outro material biológico; em 01 (1,7%) o lavado broncoalveolar e em outro (1,7%) o líquido pleural. Tabela 10.

**Tabela 10- Distribuição dos pacientes segundo o material biológico usado para pesquisar a presença da micobactéria.**

| <b>Material Biológico</b> | <b>Pacientes</b> | <b>Frequência %</b> |
|---------------------------|------------------|---------------------|
| <b>Escarro</b>            | 57               | 96,6                |
| <b>LBA</b>                | 1                | 1,7                 |
| <b>Líquido pleural</b>    | 1                | 1,7                 |
| <b>Total</b>              | 59               | 100,0               |

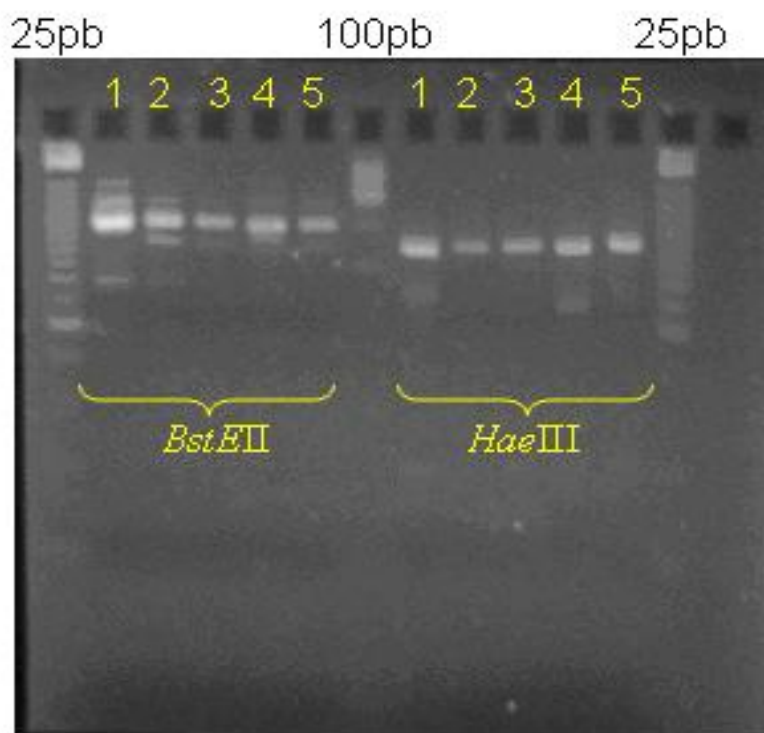
O número de amostras de escarro colhidas variou de 02 a 05 por paciente. O LBA e líquido pleural foram coletados como amostra única em dois diferentes pacientes.

### 4.5.1 Identificação e Classificação das Espécies de Micobactérias

A análise inicial das amostras dos espécimes biológicos, escarro, LBA e líquido pleural, foi realizada pelo LACEN; uma vez confirmada em cultura a presença de Colônias de Micobactérias não Tuberculosas (CMNT) em pelo menos 02 amostras consecutivas, o material era então encaminhado para

o Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Ceará, setor de Micobactéria, onde era identificada a espécie de Micobactéria pela Metodologia PRA. Figura 20 e Tabela 11.

**Figura 20. Eletroforese em gel de agarose UltraPure™ Agarose-1000 4%, mostrando o padrão das bandas que caracterizam diferentes espécies de *Mycobacterium* sp.**



Amostras digeridas com as enzimas *HaeIII* e *BstEII*. Poços 1, 2 e 3 - *M. shimodei*. Poços 4 e 5 - *M. avium*.

Fonte: Laboratório de Micobactérias/UFC. Gentilmente cedido pela Profª Cristiane Frota.

**Tabela 11- Diversidade e Freqüência de micobactérias identificadas pela Metodologia PRA, isoladas ou agrupadas, em amostras biológicas nos pacientes estudados (N=59)**

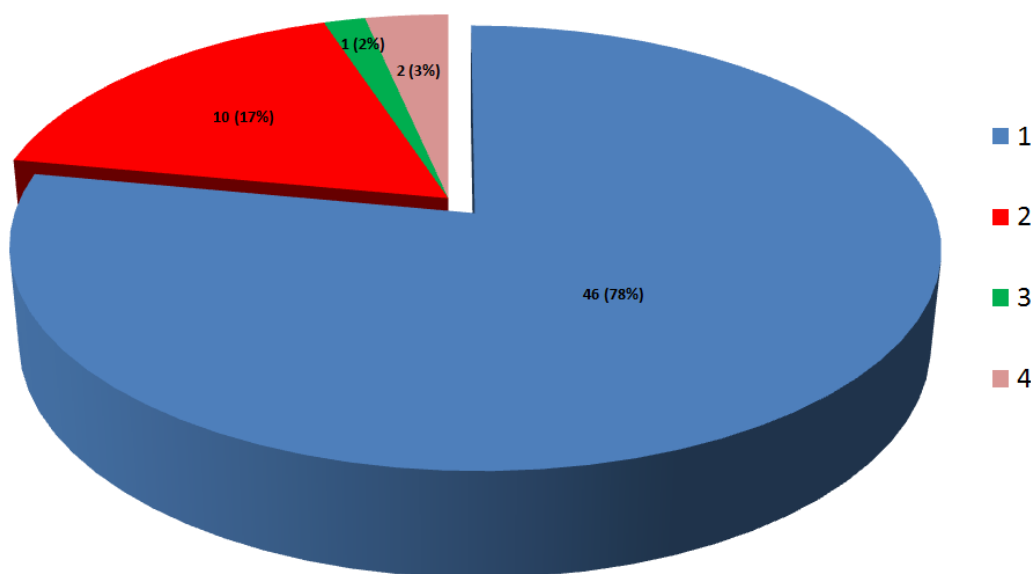
| <b>MNT Identificada</b>   | <b>Nº de pacientes</b> | <b>%</b> |
|---|------------------------|----------|
| <i>M. gordonae</i> / <i>M. kumamotonense</i> tipo 1   | 1                      | 1,7      |
| <i>M. smegmatis</i>   | 4                      | 6,8      |
| <i>M. abscessus</i>   | 14                     | 23,7     |
| <i>M. avium</i> / <i>M. abscessus</i>   | 1                      | 1,7      |
| <i>M. flavescens</i> / <i>M. chelonae</i> / <i>M. abscessus</i>                                       | 1                      | 1,7      |
| <i>M. abscessus</i> / <i>M. chelonae</i>  | 1                      | 1,7      |
| <i>M. fortuitum</i>   | 3                      | 5,1      |
| <i>M. avium</i>   | 6                      | 10,2     |
| <i>M. lentiflavum</i> tipo 2  | 8                      | 13,6     |
| <i>M. fluoranthivorans</i> tipo 1   | 1                      | 1,7      |
| <i>M. scrofulaceum</i>  | 1                      | 1,7      |
| <i>M. vaccae</i> / <i>M. flavescens</i> tipo 2  | 1                      | 1,7      |
| <i>M. fortuitum</i> / <i>M. avium</i> / <i>M. pulveris</i> tipo 1/ <i>M. thermoresistibile</i> tipo 1 | 1                      | 1,7      |
| <i>M. vaccae</i> / <i>M. smegmatis</i>  | 1                      | 1,7      |
| <i>M. conceptionense</i> tipo 1   | 1                      | 1,7      |
| <i>M. gordonae</i>  | 2                      | 3,4      |
| <i>M. kansasii</i>  | 4                      | 6,8      |
| <i>M. lentiflavum</i> tipo 2/ <i>M. gordonae</i>  | 1                      | 1,7      |
| <i>M. aurum</i> tipo 2  | 1                      | 1,7      |
| <i>M. malmoensir</i>  | 1                      | 1,7      |
| <i>M. lentiflavum</i> tipo 2 / <i>M. vaccae</i>   | 1                      | 1,7      |
| <i>M. vaccae</i> / <i>M. fortuitum</i> / <i>M. gordonae</i> / <i>M. chelonae</i>                      | 1                      | 1,7      |
| <i>M. smegmatis</i> / <i>M. gordonae</i>  | 1                      | 1,7      |
| <i>M. avium</i> / <i>M. lentiflavum</i>   | 1                      | 1,7      |
| <i>M. fortuitum</i> / <i>M. avium</i>   | 1                      | 1,7      |



Dentre os 59 pacientes estudados, a espécie de MNT mais freqüentemente identificada foi a *M. abscessus*, observada em 17 (28,5%) pacientes; Na forma isolada foi identificada em 14 (23,7%) pacientes. Na segunda posição apareceu a *M. lentiflavum* observada em 11(18,6%) pacientes e em terceira colocação a *M. avium*, observada em 10(16,6%) pacientes. As espécies *M. fortuitum* e *M. smegmatis*, foram identificadas em 06 (10,2%) pacientes, cada uma. A *M. kansasii* foi identificada em 04 (6,8%).

A associação de MNT isoladas por amostra de escarro ocorreu em 13 pacientes. Observou-se que as espécies *M. vaccae* (4), *M. gordonae* (4) e *M. avium* (4) e *M. abscessus* (3) foram as que mais freqüentemente se associaram a outras espécies de MNT por amostra de escarro, entretanto, não foi observada uma combinação de espécies predominantes. Figuras 21 e 22.

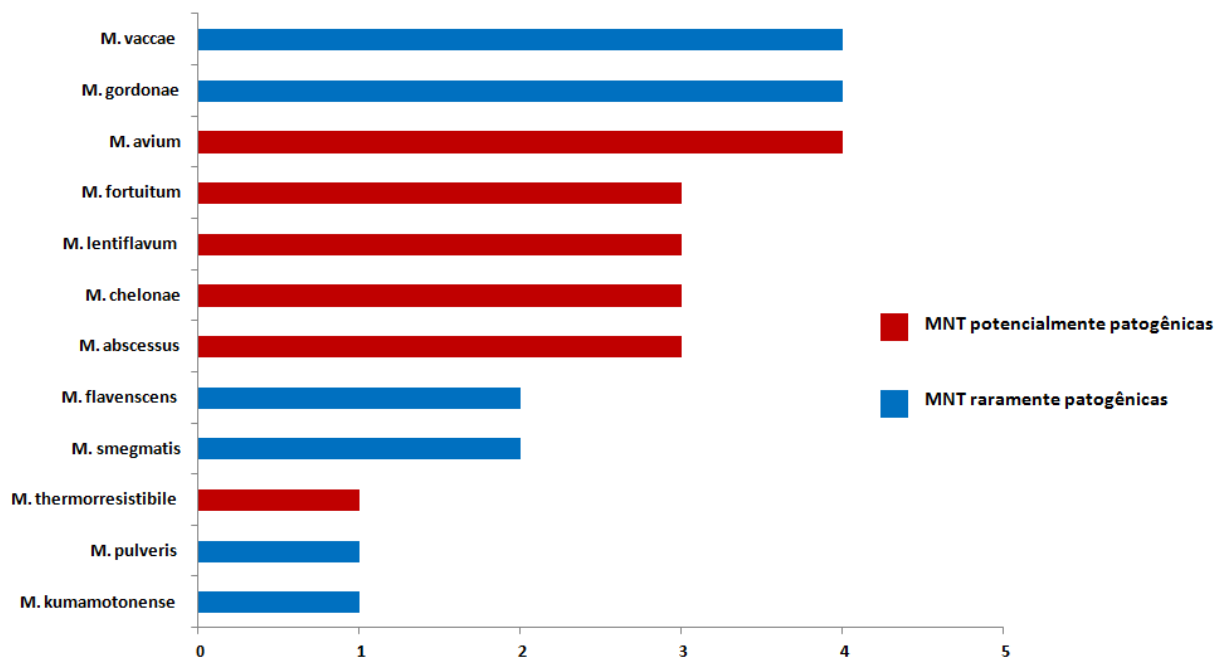
**Figura 21. Distribuição dos pacientes quanto ao n° de espécies MNT identificadas por amostra de escarro. (n=59)**



Observou-se que 46 (78%) pacientes tiveram na amostra uma única espécie de MNT identificada. Dez (17%) pacientes tiveram 02 espécies de MNT identificadas por amostra de escarro; enquanto 01 (2%) e 02 (3%)

pacientes tiveram 03 e 04 espécies de MNT identificadas por amostra de escarro, respectivamente.

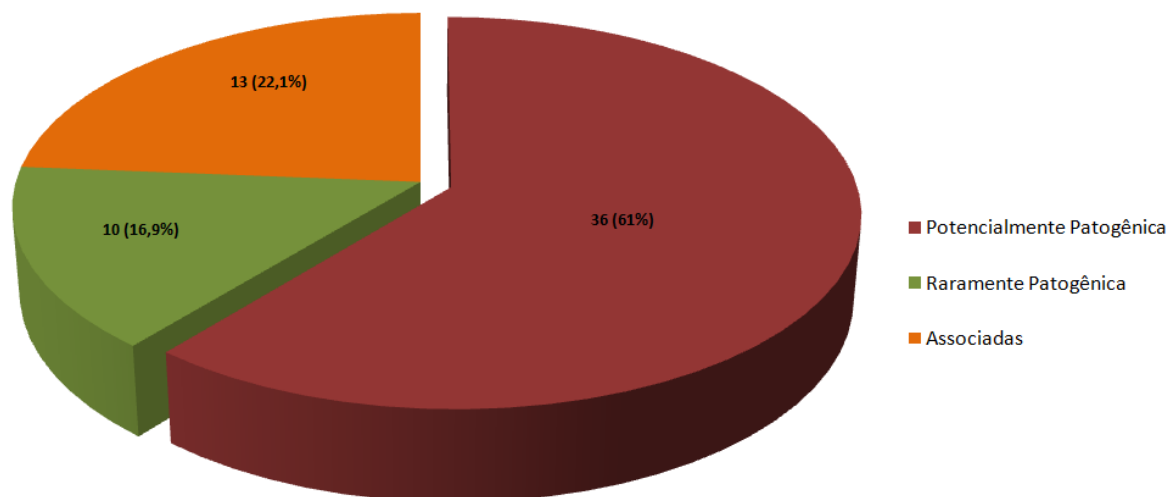
**Figura 22. Frequência de espécies de MNT identificadas que se apresentaram de forma associada (n=13).**



Diante da diversidade das micobactérias identificadas no grupo de pacientes estudados, decidiu-se agrupar as espécies identificadas conforme uma classificação vigente para as MNT, visando principalmente tornar a análise significativa.

Assim, já definido por objetivo, a disposição de estudar pacientes acompanhados em ambulatório especializado, supostamente já diagnosticados, com doença pulmonar por MNT, a classificação escolhida no presente estudo foi a baseada no potencial patogênico da micobactéria, proposta por Davidson em 1989. Essa classificação embora pouco observada nas revisões consultadas pareceu-nos adequada aos nossos objetivos. No Brasil essa classificação foi amplamente discutida por Leão e colaboradores. (Davidson,1989; Leão et al., 2004). Figura 23.

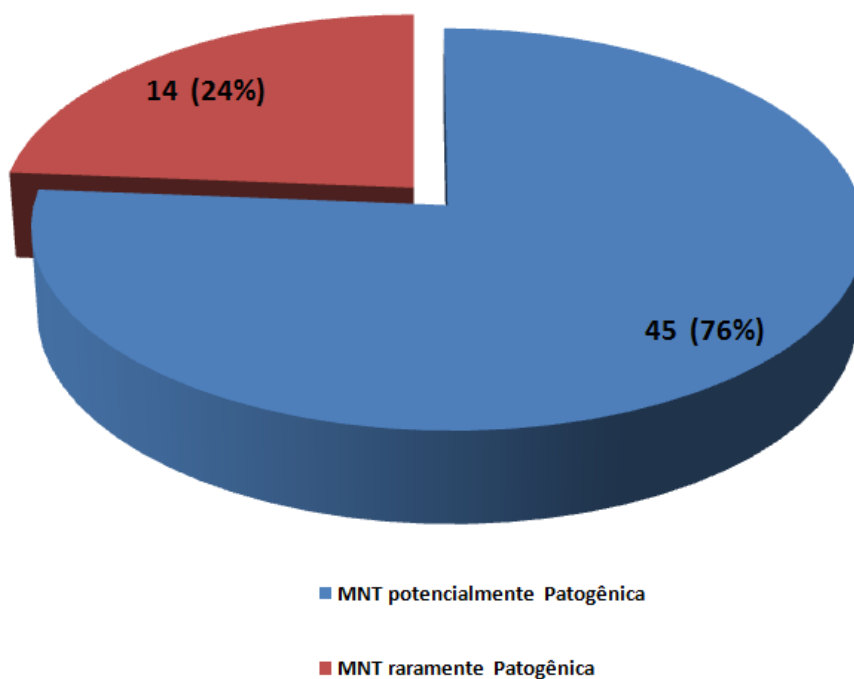
**Figura 23. Distribuição dos pacientes segundo a patogenicidade da micobactéria.**



Após a adoção da classificação conforme a patogenicidade da espécie isolada, observou-se predomínio de espécies de MNT potencialmente patogênicas na maioria dos pacientes estudados, 36 (61%). Dez (16,9%) pacientes apresentaram MNT raramente patogênica e em 13 (22%) observou-se associação entre espécies de MNT, em uma mesma amostra biológica de estudo; podendo ser associações de espécies potencialmente patogênicas entre si, observadas em 04 (6,8%) pacientes; associação de espécies potencialmente e raramente patogênicas, em 05 (8,5%) pacientes e associação de espécies raramente patogênicas, observada em 04 (6,8%) pacientes.

Para efeito de análise, quando as espécies de MNT identificadas apresentavam-se em associação, mostrando numa mesma amostra biológica, espécies potencialmente e raramente patogênicas, considerou-se esse grupo potencialmente patogênico. Após esse agrupamento a distribuição apresentou-se conforme mostra a figura 24.

**Figura 24. Distribuição dos pacientes segundo a patogenicidade da MNT, após o agrupamento (N=59)**



Observou-se que após o agrupamento de espécies, os grupos de estudo ficaram com a seguinte composição: 45 (76%) pacientes com MNT Potencialmente Patogênica e 14 (24%) com MNT Raramente Patogênica. A distribuição das espécies é apresentada na Tabela 12.

**Tabela 12- Distribuição das espécies de MNT isoladas pela Metodologia PRA conforme a patogenicidade.**

| <b>MNT<br/>Potencialmente<br/>Patogênica</b>                           | <b>Nº de<br/>Pacientes</b> | <b>MNT<br/>Raramente<br/>Patogênica</b> | <b>Nº de<br/>Pacientes</b> |
|--|----------------------------|---|----------------------------|
| <i>M. abscessus</i>  | 14                         | <i>M. smegmatis</i>                     | 4                          |
| <i>M. fortuitum</i>  | 3                          | <i>M. gordonae</i>                      | 2                          |
| <i>M. avium</i>  | 6                          | <i>M. aurum</i>                         | 1                          |
| <i>M. lentiflavum</i>  | 8                          | <i>M. malmoensir</i>                    | 1                          |
| <i>M. scrofulaceum</i>   | 1                          | <i>M.gordonae/ M.<br/>kumamotoense</i>  | 1                          |
| <i>M. kansasii</i>   | 4                          | <i>M. conceptionense</i>                | 1                          |
| <i>M. fortuitum/M. avium</i>   | 1                          | <i>M.fluoranthivivans</i>               | 1                          |
| <i>M. abscessus/ M. avium</i>  | 1                          | <i>M. vaccae/<br/>M. flavescens</i>     | 1                          |
| <i>M. avium/M. lentiflavum</i>   | 1                          | <i>M. smegmatis/<br/>M. gordonae</i>    | 1                          |
| <i>M. lentiflavum / M. vaccae</i>                                      | 1                          | <i>M. vaccae/<br/>M.smegmatis</i>       | 1                          |
| <i>M. lentiflavum / M. gordonae</i>                                    | 1                          |   |                            |
| <i>M. abscessus / M. chelonae</i>                                      | 1                          |   |                            |
| <i>M. avium/ M. fortuitum / M. pulveris /<br/>M. thermoresistibile</i> | 1                          |   |                            |
| <i>M. vaccae/M. fortuitum/<br/>M. chelonae/ M. gordonae</i>            | 1                          |   |                            |
| <i>M. flavescens/ M. chelonae/<br/>M. abscessus</i>                    | 1                          |   |                            |
| <b>Total</b>   | <b>45</b>                  |   | <b>14</b>                  |

## **4.6 Associação entre MNT e as características dos pacientes**

Outros estudos de associação foram feitos entre algumas características estudadas dos pacientes e a MNT, conforme o potencial patogênico: potencialmente patogênico e raramente patogênico.

### **4.6.1 Dados demográficos e MNT**

A tabela 14 apresenta a distribuição dos dados demográficos dos pacientes estudados conforme a presença da micobactéria potencialmente patogênica e raramente patogênica.

**Tabela 13- Distribuição dos dados demográficos dos pacientes segundo a patogenicidade da micobactéria .**

| Características                   | MNT Potencialmente Patogênica n=45 |      | MNT Raramente Patogênica n=14 |      | Significância (p) |
|-----------------------------------|------------------------------------|------|-------------------------------|------|-------------------|
|                                   | N                                  | (%)  | N                             | (%)  |                   |
| <b>Procedência:</b>               |                                    |      |                               |      |                   |
| Fortaleza                         | 37                                 | 84,4 | 13                            | 95,0 | 0,27              |
| Outros municípios                 | 7                                  | 15,6 | 1                             | 5,0  |                   |
| <b>Sexo:</b>                      |                                    |      |                               |      |                   |
| Feminino                          | 18                                 | 40,0 | 4                             | 30,0 | 0,19              |
| Masculino                         | 27                                 | 60,0 | 10                            | 70,0 |                   |
| <b>Renda:</b>                     |                                    |      |                               |      |                   |
| ≤ Salário mínimo                  | 31                                 | 68,9 | 12                            | 85,7 | 0,15              |
| > 01 Salário mínimo               | 14                                 | 31,1 | 2                             | 14,3 |                   |
| <b>História de Tabagismo:</b>     |                                    |      |                               |      |                   |
| Sim                               | 17                                 | 37,8 | 8                             | 55,0 | 0,22              |
| Não                               | 28                                 | 62,2 | 6                             | 45,0 |                   |
| <b>História de uso de Álcool:</b> |                                    |      |                               |      |                   |
| Sim                               | 23                                 | 51,1 | 6                             | 40,0 | 0,20              |
| Não                               | 22                                 | 48,9 | 8                             | 60,0 |                   |
| <b>Profissão:</b>                 |                                    |      |                               |      |                   |
| Com risco biológico               | 29                                 | 64,4 | 8                             | 57,1 | 0,21              |
| Sem risco biológico               | 16                                 | 35,6 | 6                             | 42,9 |                   |

Observou-se que no grupo de pacientes com MNT potencialmente patogênica, 84,4% eram oriundos da cidade de Fortaleza. Sessenta por cento eram do sexo masculino, 64,4% exerciam atividade com risco biológico e 68,9% tinham renda familiar inferior ou igual a um salário mínimo. Nos pacientes com MNT raramente patogênica, 95% eram oriundos da cidade de Fortaleza. Setenta por cento eram do sexo masculino, 57,1% exerciam atividade com risco biológico e 85,7% tinham renda familiar igual ou superior a um salário mínimo.

Dos pacientes que apresentaram MNT potencialmente patogênica 37,8% dos pacientes apresentavam história de tabagismo; Cinquenta e um por cento desses pacientes também relataram consumo de bebida alcoólica. Nos pacientes com MNT raramente patogênica, observou-se que 55% tinham história de tabagismo e 40% tinha história de uso de álcool. Evidenciou-se uma menor tendência ao uso de álcool, nesse grupo com relação aos pacientes que apresentaram MNT potencialmente patogênica.

Os resultados dos diversos dados apresentados na tabela mostraram semelhança percentual em termos de procedência, sexo, renda familiar e profissão de acordo com risco biológico nos dois grupos de pacientes, potencialmente e raramente patogênicos. Embora o uso de bebida alcoólica nos pacientes com MNT raramente patogênica tenha evidenciado menor tendência quando comparado ao grupo com MNT potencialmente patogênico, tal tendência não se mostrou significativa ( $p=0.20$ ).

A Tabela 14 apresenta a idade média e mediana (bem como a dispersão/variabilidade das idades) da população estudada conforme a presença da micobactéria potencialmente patogênica e raramente patogênica.

**Tabela 14- Resumo descritivo da idade do paciente na época do diagnóstico segundo a patogenicidade da micobactéria isolada.**

| MNT                       | Pacientes | Média | Desvio padrão | Mínimo | Mediana | Máximo |
|---------------------------|-----------|-------|---------------|--------|---------|--------|
| Potencialmente patogênica | 45        | 52,2  | 15,2          | 20,0   | 54,0    | 91,0   |
| Raramente patogênica      | 14        | 47,4  | 16,2          | 21,0   | 47,5    | 75,0   |

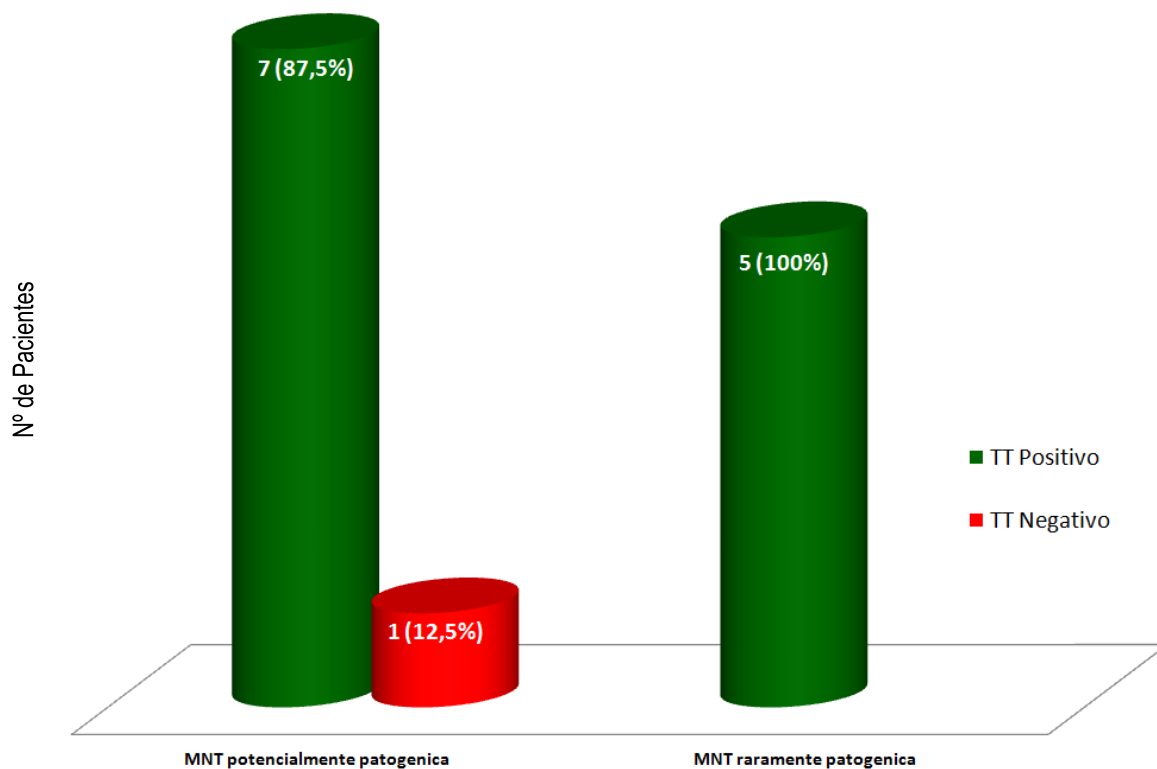


Observou-se que a média de idade foi maior nos pacientes que apresentaram MNT potencialmente patogênica (52%), quando comparada com a média dos pacientes com MNT raramente patogênica cuja média foi 47%, embora a diferença não tenha sido significativa ( $p= 0,108$ ).

#### 4.6.2 Teste tuberculínico e MNT

Oito pacientes com MNT potencialmente patogênica e 05 pacientes com MNT raramente patogênica realizaram o teste tuberculínico. Figura 25.

**Figura 25. Frequência de positividade ao teste tuberculínico dos pacientes de acordo com a patogenicidade da MNT (n=13).**



Observou-se que entre os pacientes com MNT potencialmente patogênica 07 (87,5%) pacientes apresentaram o teste tuberculínico positivo e 01(12,5%) paciente apresentou teste tuberculínico negativo. A média do tamanho da endureção dos testes tuberculínicos positivos foi 12,6mm com variação de 7 a 18 mm. Entre os pacientes com MNT raramente patogênica, 05 (100%) apresentaram o teste tuberculínico positivo. A média do tamanho da endureção dos testes nesses pacientes foi 11,6mm com variação de 8 a 20 mm. Observou-se semelhança entre as médias dos testes tuberculínicos com MNT potencialmente patogênica e raramente patogênica.

#### 4.6.3 Teste Tuberculínico, História prévia de TB e MNT

**Tabela 15- Distribuição dos pacientes segundo teste tuberculínico, história prévia de TB e MNT.**

| MNT                       | Teste Tuberculínico |          | História Prévia de TB |           |
|---------------------------|---------------------|----------|-----------------------|-----------|
|                           | Positivo            | Negativo | Presente              | Ausente   |
| Potencialmente patogênica | 7                   | 1        | 27                    | 18        |
| Raramente patogênica      | 5                   | 0        | 5                     | 9         |
| <b>Total</b>              | <b>12</b>           | <b>1</b> | <b>32</b>             | <b>27</b> |

Observou-se que 32 (54%) pacientes tinham história prévia de TB. Nos pacientes com MNT potencialmente patogênica, 27 (62,2%) apresentavam história prévia de TB, e 05 (35,7%) pacientes com MNT raramente patogênica apresentavam história prévia de TB.

A análise em separado do grupo de 07 pacientes que apresentaram teste tuberculínico positivo no grupo de MNT potencialmente patogênica, mostrou que 05 (71,4%) desses pacientes tinham história prévia de TB. Enquanto nos 05 pacientes com teste tuberculínico positivo no grupo de MNT raramente patogênica, 02 (14%) tinham relato de história prévia de TB (Anexo D).

#### 4.6.4 Sorologia anti HIV, Comorbidades e MNT

**Tabela 16- Distribuição Percentual dos dados clínicos: história prévia de TB, sorologia HIV e doenças associadas, segundo a MNT.**

| <b>Características</b> | <b>MNT Potencialmente Patogênica n=45 (%)</b> | <b>MNT Raramente Patogênica n=14 (%)</b> |
|------------------------|---|--|
| <b>Sorologia HIV:</b>  |   |  |
| Positivo               | 2,2   | 21,4                                     |
| Negativo               | 57,0  | 50,0                                     |
| Sem registro           | 37,8  | 35,7                                     |
| <b>Comorbidades:</b>   |   |  |
| Sim                    | 37,8  | 46,6                                     |
| Não                    | 51,1  | 53,4                                     |
| Sem registro           | 11,1  | 0,00                                     |

Observou-se que 57% (26/45) dos pacientes com MNT potencialmente patogênica 50% (7/14) dos pacientes com MNT raramente patogênica, apresentaram teste sorológico negativo para HIV.

Dos pacientes com MNT potencialmente patogênica 37,8% (17/45) apresentavam comorbidades associada ao diagnóstico de doença pulmonar por MNT. As doenças apresentavam-se assim distribuídas: Hipertensão arterial

(4); DPOC (3); DM (3); AIDS (1); Bronquiectasia (3); Asma (1); Silicose (1); Epilepsia (1). Nos pacientes com MNT raramente patogênica 46,6% (6/14) apresentavam comorbidades, assim distribuídas: AIDS (3); HAS (1); DM (1) e DPOC (1).

#### 4.6.5 Sintomas e MNT

**Tabela 17- Distribuição dos pacientes conforme os sintomas respiratórios e MNT potencialmente e raramente patogênica.**

| Sintomas respiratórios | MNT Potencialmente Patogênica n=45 |      | MNT Raramente Patogênica n=14 |     |
|------------------------|------------------------------------|------|-------------------------------|-----|
|                        | Pacientes                          | (%)  | Pacientes                     | (%) |
| <b>Tosse</b>           | 43                                 | 88,9 | 14                            | 100 |
| <b>Expectoração</b>    | 33                                 | 73,3 | 10                            | 75  |
| <b>Hemoptise</b>       | 13                                 | 31,1 | 3                             | 20  |
| <b>Dispnéia</b>        | 8                                  | 17,8 | 3                             | 25  |
| <b>Outros sintomas</b> | 3                                  |      |                               |     |
| ▪ Sibilos              | 1                                  | 2,2  | 0                             | 0   |
| ▪ Dor torácica         | 1                                  | 2,2  | 1                             | 7   |

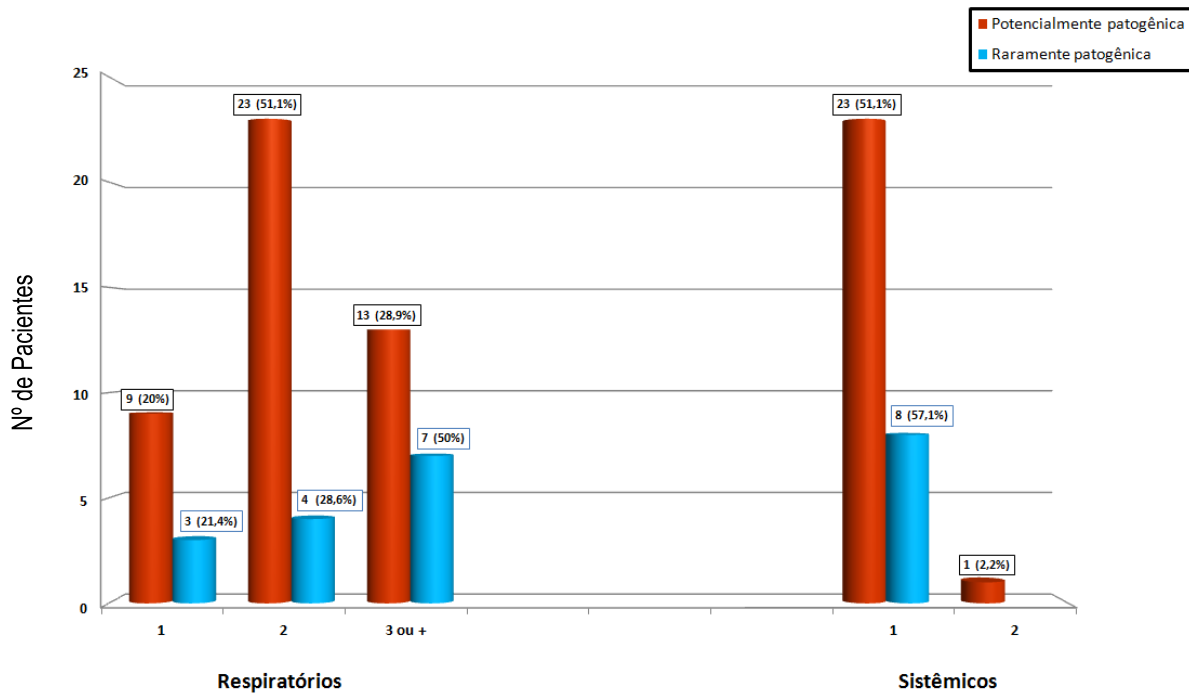
Observou-se predomínio dos sintomas tosse e expectoração nos dois grupos em relação aos demais sintomas: tosse em 88,9% dos pacientes com MNT potencialmente patogênica e 100% nos pacientes com MNT raramente patogênica; e expectoração em 73,3% dos pacientes com MNT potencialmente patogênica e 75% nos pacientes com MNT raramente patogênica. Entretanto, este predomínio não foi significativo para discriminar a patogenicidade da micobactéria ( $p>0,05$ ). A dispnéia e a hemoptise apresentaram comportamento semelhante.

**Tabela 18- Distribuição dos pacientes conforme os sintomas sistêmicos e a MNT isolada, potencialmente e raramente patogênica.**

| Sintomas Sistêmicos | MNT potencialmente patogênica n=45 |      | MNT Raramente Patogênica n=14 |      |
|---------------------|------------------------------------|------|-------------------------------|------|
|                     | Pacientes                          | (%)  | Pacientes                     | (%)  |
| Febre               | 8                                  | 17,8 | 1                             | 7,1  |
| Emagrecimento       | 16                                 | 35,6 | 4                             | 28,6 |
| Anorexia            | 1                                  | 2,2  | 1                             | 7,1  |
| Adinamia            | 6                                  | 13,3 | 2                             | 14,3 |
| Sudorese            | 1                                  | 2,2  | 0                             | 0,0  |

Observou-se predomínio dos sintomas emagrecimento (35,6% e 28,6%) e febre (17,8% e 7,1%) na maioria dos pacientes, independente do potencial patogênico da MNT. Entretanto os dados obtidos não apontam para que tais sintomas possam discriminar a patogenicidade da micobactéria envolvida. Quanto aos outros sintomas sistêmicos (adinamia, anorexia e sudorese), também se observou tendência semelhante.

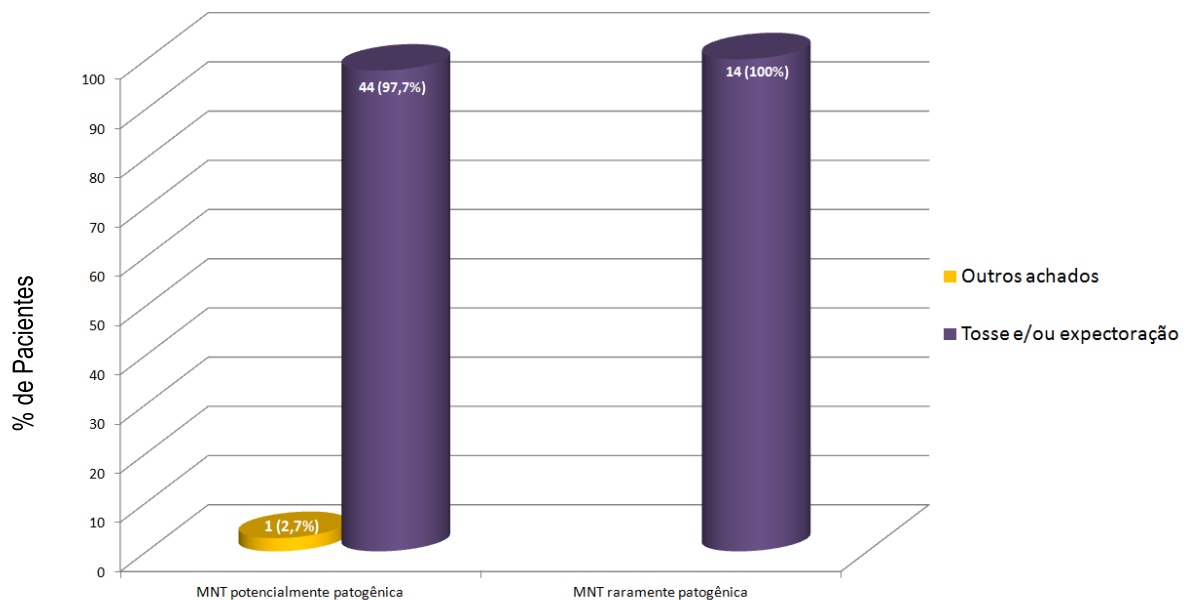
**Figura 26. Frequência do número de sintomas respiratórios e sistêmicos nos pacientes com MNT de acordo com a patogenicidade da espécie.**



No grupo de pacientes com MNT potencialmente patogênica, a associação de dois ou mais sintomas respiratórios (80%) predominou em relação ao grupo de pacientes com MNT raramente patogênica (78,6%). Quanto aos sintomas sistêmicos o predomínio foi de um sintoma isolado, que foi o emagrecimento, observado nos dois grupos de MNT. Vinte e sete (45,8%) pacientes não apresentaram sintomas sistêmicos. Desses, 21 pacientes pertenciam ao grupo das MNT potencialmente patogênicas, e 06 ao grupo de MNT raramente patogênicas.

A maior frequência observada quanto à forma de apresentação dos sintomas respiratórios, 02 ou mais sintomas, no grupo de pacientes estudados possibilitou a comparação dos dois sintomas mais frequentes e a patogenicidade da MNT. Figura 27.

**Figura 27. Distribuição dos sintomas respiratórios (tosse e/ou expectoração) nos grupos de pacientes de acordo com a patogenicidade da MNT.**



Quando se analisou os dois sintomas respiratórios mais frequentes, tosse e/ou expectoração, observou-se comportamento semelhante nos dois grupos de MNT, potencialmente e raramente patogênicas, apresentando percentual de 97,7% e 100%, respectivamente. O mesmo comportamento quando se analisou os sintomas isoladamente. Configurando-se a não evidência de associação entre os sintomas respiratórios e patogenicidade da micobactéria ( $P= 0,20$ ).

#### 4.6.6 Achados Radiológicos e MNT

**Tabela 19- Distribuição e freqüência dos achados radiológicos nos pacientes de acordo com a sua inclusão no grupo patogênico.**

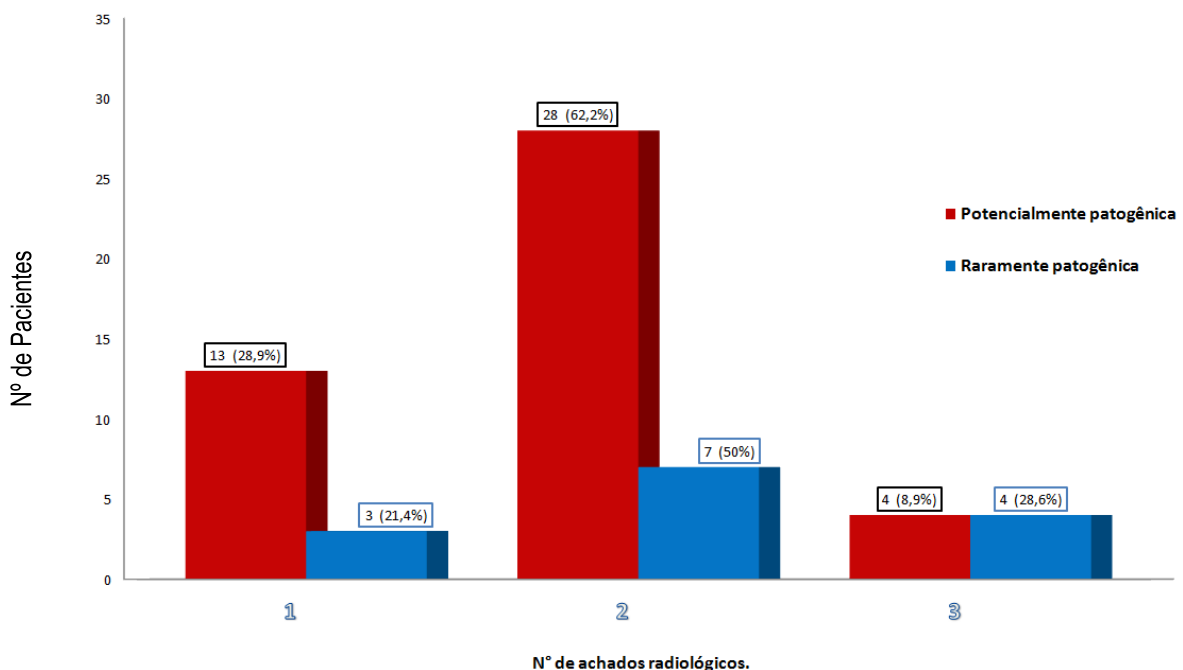
| Achados Radiológicos           | MNT Potencialmente Patogênica n=45 |      | MNT Raramente Patogênica n=14 |      |
|--------------------------------|------------------------------------|------|-------------------------------|------|
|                                | Pacientes                          | (%)  | Pacientes                     | (%)  |
| <b>Fibrose</b>                 | 32                                 | 71,1 | 11                            | 78,6 |
| <b>Cavidade</b>                | 22                                 | 48,9 | 5                             | 35,7 |
| <b>Infiltrado intersticial</b> | 9                                  | 20,0 | 1                             | 7,1  |
| <b>Bronquiectasia</b>          | 9                                  | 20,0 | 4                             | 28,5 |
| <b>Opacidade Alveolar</b>      | 5                                  | 11,1 | 3                             | 21,4 |
| <b>Nódulo</b>                  | 1                                  | 2,2  | 1                             | 7,1  |
| <b>Outros Achados</b>          |                                    | 13,3 |                               |      |
| Hiperinsuflação                | 0                                  | 0,0  | 1                             | 7,1  |
| Emfisema                       | 2                                  | 4,4  | 1                             | 7,1  |
| Atelectasia                    | 1                                  | 2,2  | 0                             | 0,0  |
| Broncograma aéreo              | 2                                  | 4,4  | 1                             | 7,1  |

Observou-se predomínio dos achados de fibrose acima de 71% nos dois grupos de MNT potencialmente patogênica e raramente patogênica; enquanto a cavidade foi o segundo achado radiológico mais freqüente em ambos os grupos. Dois pacientes apresentaram raio X de tórax normal, um de cada grupo. Pela tabela não se observou indícios de associação dos achados radiológicos com presença de MNT potencialmente e raramente patogênica, dado que a distribuição dos pacientes é praticamente idêntica (isto é, as



diferenças observadas são explicadas pela variação amostral, dado a amostra de apenas 59 pacientes).

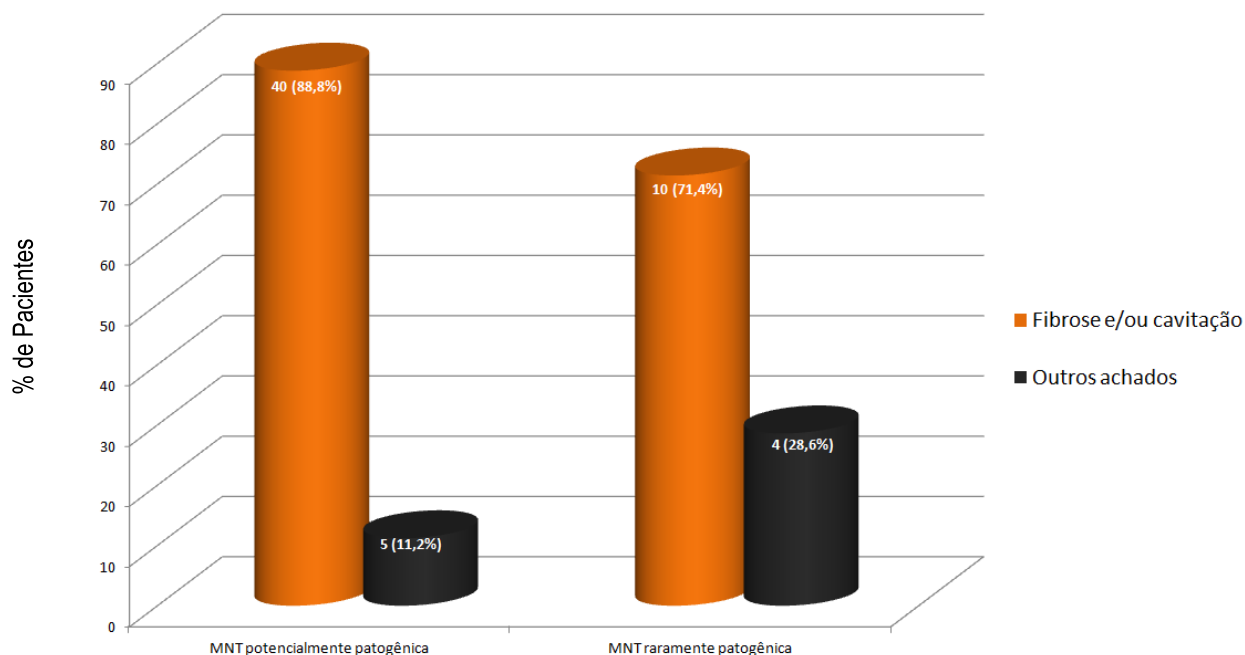
**Figura 28. Frequência do número de achados radiológicos dos pacientes com MNT de acordo com a patogenicidade da espécie.**



Observou-se predomínio da presença de 02 achados radiológicos por paciente 28 (62,2%), quando a MNT identificada pertencia ao grupo das potencialmente patogênicas, em relação aos demais números de achados. Embora, em menor valor percentual, no grupo de pacientes com MNT raramente patogênicas (50%), observou-se predomínio de 02 achados radiológicos.

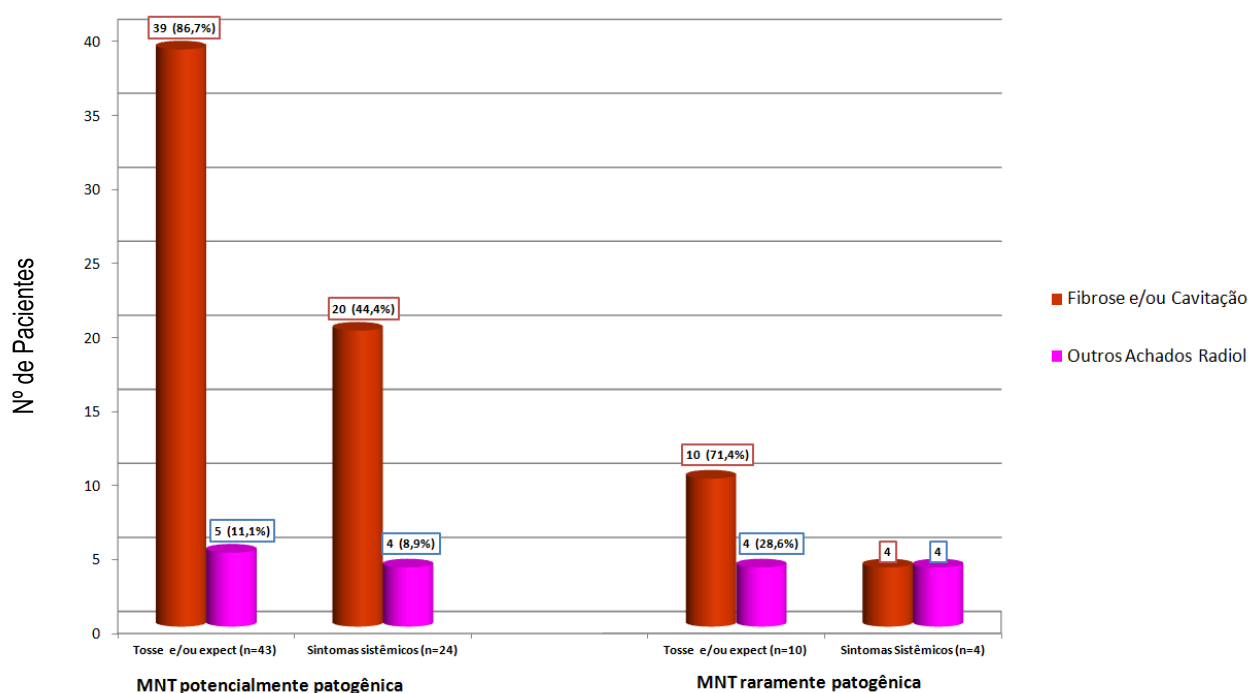
A maior frequência observada no grupo de pacientes estudados quanto à forma de apresentação dos achados radiológicos, 02 ou mais achados, possibilitou a comparação dos dois achados mais frequentes (fibrose e cavidade) e a patogenicidade da MNT. Figura 29.

**Figura 29. Distribuição percentual dos achados radiológicos, fibrose e/ou cavidade nos grupos de pacientes de acordo com a patogenicidade da MNT.**



Na análise dos achados radiológicos fibrose e/ou cavidade, foi observado predomínio destes quando comparados com os outros achados radiológicos, em 88,8% no grupo de pacientes com MNT potencialmente patogênica e em 71,4% no grupo das MNT raramente patogênicas. Contudo dado que a distribuição percentual dos pacientes é praticamente invariante para as duas categorias de MNT, este resultado não evidenciou associação estatisticamente significativa. ( $p=0,20$ )

**Figura 30. Relação entre os achados clínicos e radiológicos observados nos diferentes grupos de pacientes com MNT potencialmente patogênica (n= 45) e raramente patogênica ( n= 14).**

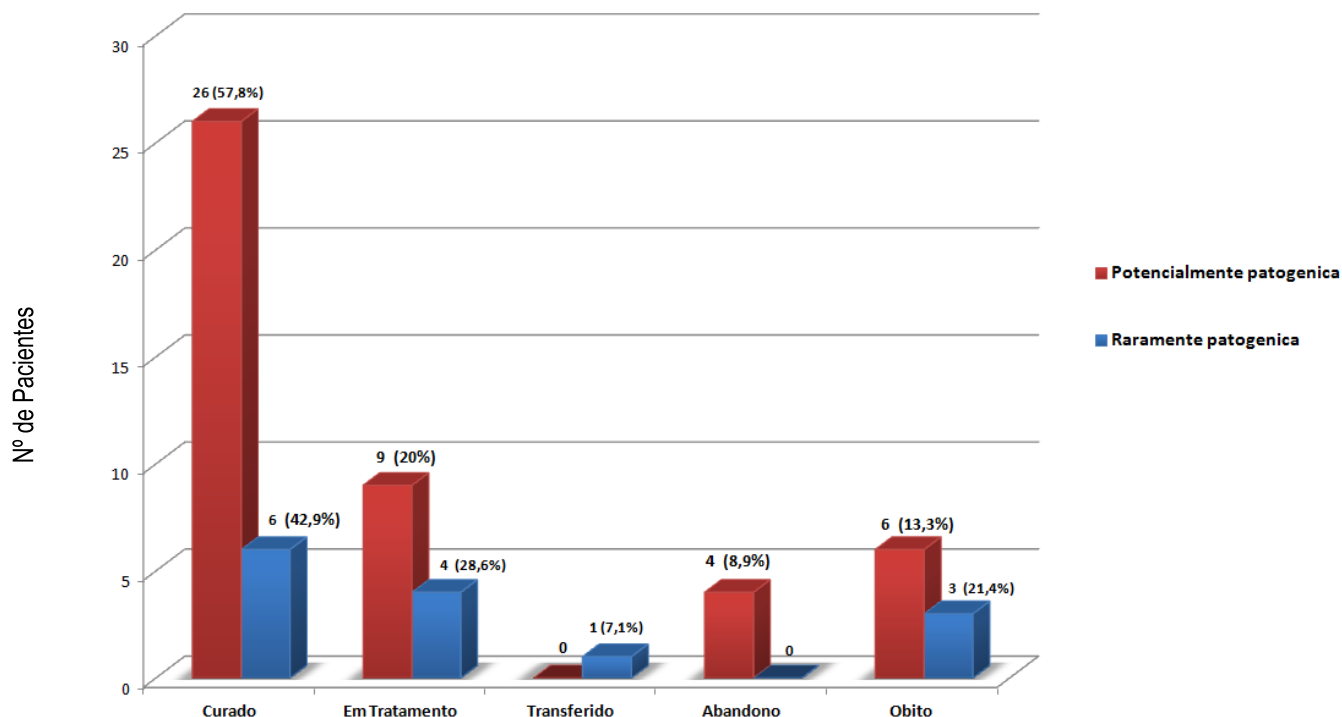


Observou-se que no grupo de pacientes nos quais foi isolada MNT potencialmente patogênica e que se apresentavam com de tosse e/ou expectoração (n=43), 39 (90,7%) apresentaram achados radiológicos de fibrose e/ou cavidade. No grupo das MNT raramente patogênicas e que apresentavam de tosse e/ou expectoração (n=10), todos (100%) apresentavam fibrose e/ou cavidade.

Quanto aos sintomas sistêmicos, nos pacientes com MNT potencialmente patogênica (n= 24), 20 (83,3%) tinham achados de fibrose e/ou cavidade; No grupo de pacientes com MNT raramente patogênica (n=4), 04 (100%) tinham achados radiológicos de fibrose e/ou cavidade.

#### 4.6.7 Desfecho e MNT

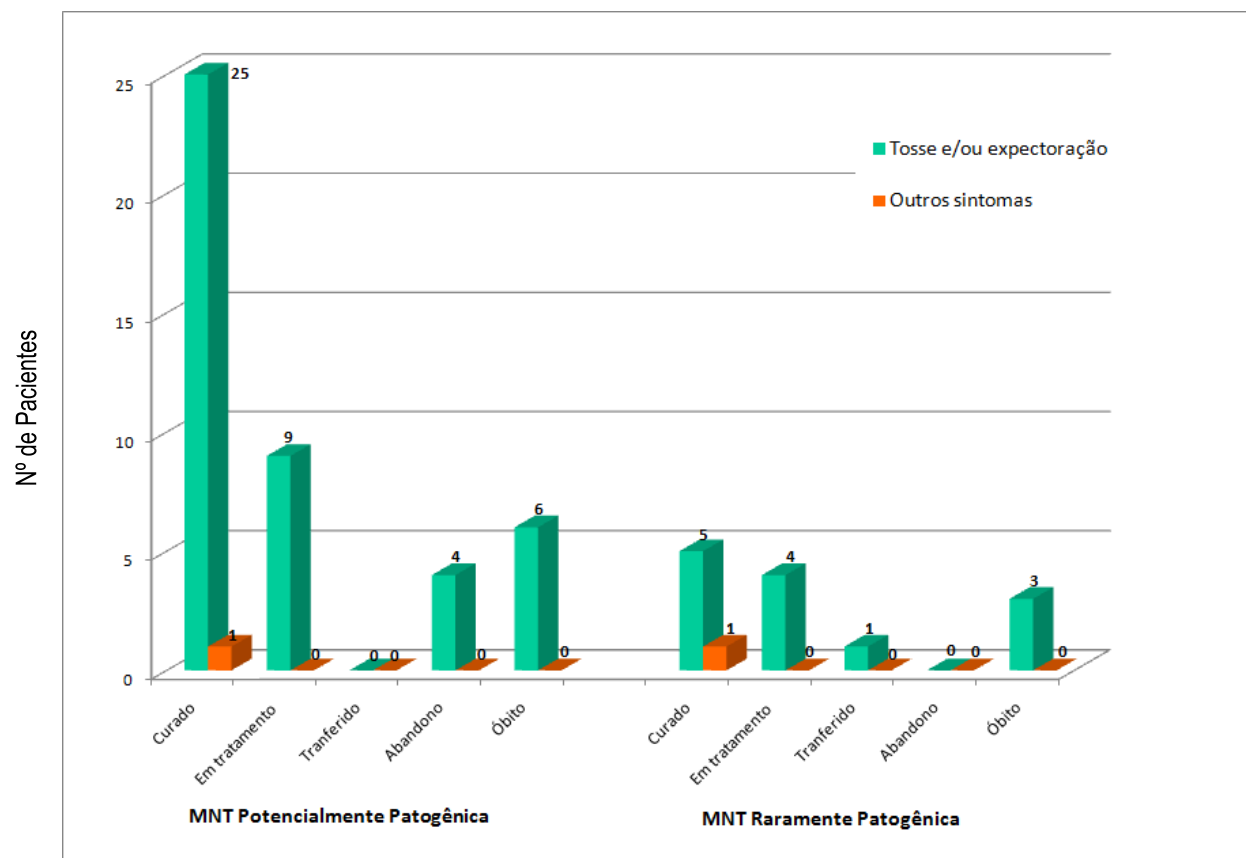
**Figura 31. Desfecho do tratamento no grupo de pacientes com doença pulmonar por MNT de acordo com o potencial patogênico.**



Dos 45 pacientes nos quais foi isolada MNT potencialmente patogênica, 26 (57,8%) tiveram alta curados; Nove (20%) pacientes continuavam em tratamento até o encerramento da coleta de dados; Quatro (28,6%) pacientes haviam abandonado o tratamento e 06 (13,3%) haviam falecido. No grupo de pacientes com MNT raramente patogênica (n=14), observou-se que 06 (42,9%) pacientes tiveram alta, curados; Quatro (28,6%) pacientes continuavam em tratamento até o encerramento da pesquisa; Um (7,1%) paciente tinha sido transferido para seu município de origem; Três (21,4%) haviam falecido.

Observou-se que pacientes com MNT potencialmente patogênica, apresentaram um percentual de cura superior ao de pacientes com MNT raramente patogênica. Quanto às demais categorias de desfecho não se observou tal comportamento.

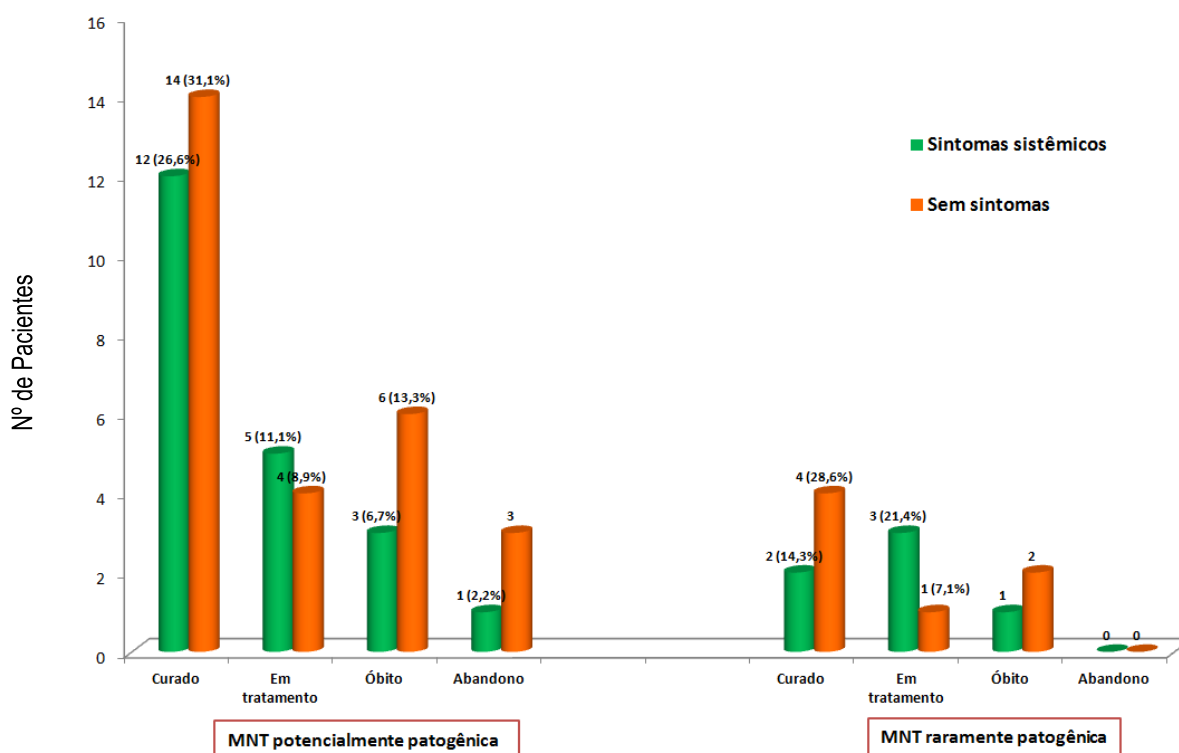
**Figura 32. Desfecho dos pacientes com doença pulmonar por MNT e presença de sintomas respiratórios.**



Observou-se que os pacientes com MNT potencialmente patogênica (n=45) e que obtiveram cura (55,5%) e que continuaram em tratamento (20%) até o encerramento da coleta de dados, constituíam o grupo de pacientes mais sintomáticos respiratórios quanto à presença de tosse e/ou expectoração. Comportamento semelhante foi observado para os pacientes com MNT

raramente patogênica. O percentual de pacientes com sintomas de tosse e expectoração (21,4%) foi maior em pacientes com MNT raramente patogênica e que tiveram como desfecho óbito quando comparado com os pacientes com MNT potencialmente patogênica (13,3%).

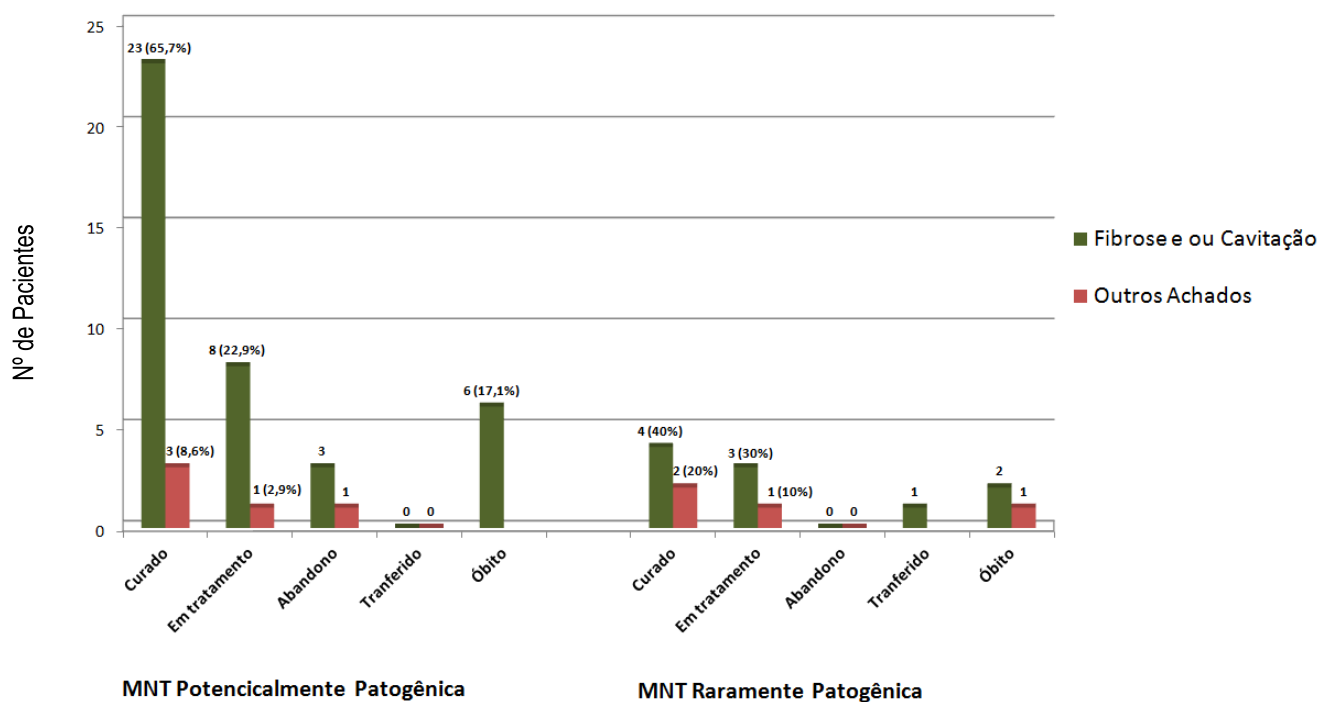
**Figura 33. Desfecho dos pacientes com doença pulmonar por MNT e presença de sintomas sistêmicos.**



Observou-se que nos pacientes sem sintomas sistêmicos independente do grupo de MNT a que pertenciam o percentual de cura foi superior aos indivíduos sintomáticos. O comportamento se inverteu nos pacientes que continuaram em tratamento, os pacientes mais sintomáticos independente da patogenicidade da MNT continuaram em tratamento. Quanto ao óbito se observou que nos dois grupos de pacientes com MNT o percentual foi mais elevado nos pacientes sem sintomas sistêmicos. O abandono ocorreu

em 04 pacientes com MNT potencialmente patogênica, sendo que 03 desses pacientes não apresentaram sintomas sistêmicos.

**Figura 34. Frequência de pacientes segundo o Desfecho e a presença de achados radiológicos fibrose e/ou cavidade.**



Observou-se que pacientes curados com MNT potencialmente patogênica apresentavam mais freqüentemente achados radiológicos de cavitação e/ou fibrose 23 (65,7%) quando comparados com os pacientes MNT raramente patogênica 04 (40%). Comportamento observado nas demais categorias do desfecho independente da MNT.

## 5 DISCUSSÃO

As infecções por micobactérias não tuberculosas estão se tornando mais frequentes em todo o mundo e também no Brasil. Embora ainda se observe que os pacientes imunodeprimidos constituem um grupo de risco preferencial, as taxas de comprometimento em indivíduos não imunodeprimidos ganham patamares anteriormente não observados. Esse fato apesar de ter sido evidenciado primeiramente nos países desenvolvidos, agora também vem sendo observado nos países em desenvolvimento. Dados americanos têm mostrado taxas de incidência crescentes das infecções por MNT (FALKINHAM III, 1996). Cassidy e colaboradores em estudo realizado no estado de Oregon, Estados Unidos, região do Pacífico, mostrou dados de prevalência de infecção geral por MNT em 17,8 casos por 100.000 habitantes; o estudo foi uma coorte retrospectiva, utilizando dados de 19 laboratórios creditados pelo governo. Os autores estudaram as características demográficas desses pacientes cujas culturas foram positivas para MNT e também o sítio de comprometimento da infecção. A doença pulmonar por MNT predominou em comparação com os outros sítios, apresentando prevalência de 7,2% para cada 100.000 habitantes (CASSIDY et al., 2009).

O maior interesse no estudo das infecções por MNT observado nos últimos anos coincide com a queda de incidência da TB nos países desenvolvidos. As informações científicas geradas nos diversos estudos têm contribuído para melhor entendimento da epidemiologia da micobactéria, precisão e rapidez na identificação das espécies e também maior conhecimento das diversas formas de comprometimento das infecções causadas por MNT, permitindo assim maior número de diagnósticos.

No Brasil as infecções por MNT são relatadas em estudos isolados, com destaque para a participação dos estados da região sudeste. Observam-se nesses estudos, utilização de metodologias variadas, de difícil comparação e reprodutibilidade. Dificuldades, às vezes explicada pela distribuição geográfica diferenciada da micobactéria no país e pelos critérios diagnósticos



da infecção por MNT que exigem metodologia mais complexa, indisponível em muitos estados brasileiros. Outra dificuldade importante a ser considerada em relação aos estudos em MNT é a não obrigatoriedade da notificação da doença. (COSTA et al., 2010).

Dados dos surtos de infecção por micobactérias de crescimento rápido relacionadas a procedimentos invasivos, como cirurgias por via laparoscópica e artroscópica, procedimentos de estética, cirurgias plásticas e oftalmológicas, ocorridos a partir do ano 2000 contribuíram para despertar o interesse no estudo dessas micobactérias (MACEDO; HENRIQUES, 2009). Em 2004, um único surto relacionado a procedimentos cirúrgicos afetou a mais de 2000 pacientes em diferentes estados do Brasil.

O desconhecimento pelos profissionais de saúde sobre este tipo de infecção leva ao atraso no diagnóstico e ao não reconhecimento do problema.

A dificuldade dos estudos populacionais com interesse nas MNT no Brasil fez com que o foco da maior parte das publicações nacionais reproduzisse apenas séries institucionais, por vezes mostrando a identificação das espécies, outras vezes mostrando as diversas formas clínicas de apresentação das infecções causadas por MNT em grupos específicos, além da identificação das espécies (CHIMARA et al., 2008; CONDE et al., 2004).

Matos e colaboradores, com metodologia semelhante ao presente estudo, realizou importante análise de 36 pacientes referenciados ao ambulatório especializado no tratamento de tuberculose multirresistente (TBMR) do Hospital Otávio Mangabeira, especializado em TB e outras doenças pulmonares na Bahia, no período de 1998 a 2003. Dos 236 pacientes com suspeita de TBMR encaminhados ao ambulatório especializado, 19 tiveram culturas positivas para MNT e a prevalência de doença pulmonar por MNT observada foi de 8,2% (MATOS et al., 2004).

Leite e colaboradores encontraram taxa de 11,5%, em estudo realizado na cidade de Araraquara, São Paulo (LEITE et al., 1995). Em Manaus, Amazonas, Salém e colaboradores encontraram taxas de 25,4% (SALÉM et al., 1989).

Conde e colaboradores em 1999, no Rio de Janeiro, utilizando dados de pacientes de hospital especializado no tratamento de Aids mostraram taxas de prevalência de doença por MNT de 5,8%, nesta população e Ferreira et al. (2002), também, no Rio de Janeiro relataram taxas de 15% de infecção por MNT, embora neste último estudo as amostras usadas para cultura fossem de sítio respiratório e de outros sítios (linfonodos, pele, etc). (CONDE et al., 1999; FERREIRA et al., 2002).

A variabilidade das taxas de prevalência apresentadas nas diferentes regiões brasileiras se explica provavelmente pela distribuição geográfica das MNT, que parece ser maior no norte e nordeste do país. Outros aspectos a serem considerados são: idade e tipo de população estudada, prevalência de HIV e também de TB. A tuberculose merecendo destaque especial pelo fato de se tratar de doença com características de promover grau significativo de destruição pulmonar, condição considerada como fator predisponente associado à doença pulmonar por MNT, as quais habitualmente colonizam pulmões de pacientes com sequelas de doenças pulmonares destrutivas. (BARRETO; CAMPOS, 2000).

Em nosso estudo, ao analisar os dados em um período de 10 anos, observamos o aumento progressivo do número de casos de doença pulmonar por MNT ao longo desta década. Em mais da metade dos 59 pacientes analisados (55%), a doença foi diagnosticada nos anos de 2006 e 2007. Embora o dado nos chame atenção, não é possível inferir que venha ocorrendo um aumento na incidência de MNT no Ceará. Neste trabalho objetivamos apresentar dados dos pacientes com doença pulmonar por MNT em seus diversos aspectos epidemiológicos, clínicos e radiológicos, relacionando ao tipo de espécies predominantes.

Comentaremos inicialmente e de maneira individual alguns aspectos do delineamento experimental do estudo, que consideramos importantes para melhor conduzir a discussão. Seguir-se-á a discussão das diversas características em estudo.

## **5.1 Seleção dos Casos**

Consideramos ter sido oportuno que a seleção dos casos para o estudo, ao final das exclusões, se mantivesse restrita aos pacientes em acompanhamento no ambulatório especializado de TB/TBMR e Doença por MNT do Hospital de Messejana, referência estadual para avaliação e tratamento das micobacterioses, uma vez que nosso objetivo principal era avaliar características clínicas e demográficas de pacientes com a doença pulmonar por MNT.

## **5.2 Seleção das Características estudadas.**

Inúmeras discussões sobre quais parâmetros e características devem ser utilizadas em pesquisas clínicas são levantadas no dia a dia de diversos pesquisadores. Na opinião de David Bates, “[...] o melhor instrumento a ser usado em um estudo epidemiológico, é aquele escolhido à luz dos objetivos definidos, bem como a natureza da anormalidade, disfunção ou doença esperada na população em estudo” (BATES, 1989).

No presente estudo, por se propor a estudar os pacientes com doença pulmonar por MNT, as características epidemiológicas e clínicas que nos pareceram mais adequadas foram definidas e disponíveis no protocolo

clínico utilizado (anexo A). Os principais fatores determinantes para a escolha desses caracteres foram:

- Expectativa do registro da informação na entrevista clínica dos médicos, no atendimento em ambulatórios para esse tipo de paciente.
- Potencialidade de informações por elas fornecidas
- Possibilidade de confrontabilidade de dados na literatura de referência.

### **5.3 As características Epidemiológicas e Clínicas.**

A maioria dos pacientes estudados era pertencente ao sexo masculino (62,7%), com média de idade de 50,4 anos. Esse predomínio de pacientes do sexo masculino também foi observado no estudo de Matos e colaboradores de Salvador, estado da Bahia, cujas características de metodologia se assemelham ao do presente estudo. Os autores baianos estudaram 19 pacientes com doença pulmonar por MNT, encontraram predomínio do sexo masculino (68,4%) e média de idade de 48,9 anos (MATOS et al. , 2004).

Em Buenos Aires, Argentina, Di Lonardo e colaboradores em relato de 18 pacientes com MNT, encontraram também predomínio do sexo masculino (72%), com média de idade 42,5% anos. (DI LONARDO et al., 1983). O predomínio do sexo masculino com média de idade de 57 anos foi relatado também por O' Brien e colaboradores nos Estados Unidos (O`BRIEN et al., 1987).

Alguns pesquisadores, entretanto, têm observado comportamento diferente em estudos mais recentes, quanto ao predomínio do sexo masculino, sugerindo tendência à modificação na epidemiologia da doença pulmonar por MNT nas últimas décadas. Estudos a partir do ano 2000 apontam para uma

inversão no predomínio de gênero, relatando predominância da doença em mulheres, bem como, em populações com idade mais avançada. (CASSIDY et al., 2009; KIM et al., 2008; GRIFFITH et al., 2007; FREEMAN et al., 2007).

No presente estudo, embora tenha se observado inicialmente predomínio do sexo masculino na população geral estudada, inclusive se observando comportamento semelhante ao se associar o sexo do paciente com a patogenicidade da micobactéria, tanto no grupo de pacientes com MNT potencialmente patogênica quanto no grupo com MNT raramente patogênica; Ao se associar, no entanto, o sexo do paciente ao risco de adoecimento oferecido pela atividade profissional desempenhada observou-se mudança do padrão e as pacientes do sexo feminino predominaram de maneira significativa, com valores em torno de 60%.

Em relação à procedência do grupo de pacientes em nosso estudo foi observado que a maioria (86,4%) era oriunda da cidade de Fortaleza. Observação semelhante foi vista no estudo de Matos e colaboradores, na Bahia, que dentre os 19 pacientes com doença pulmonar por MNT de sua casuística, 17 (90%) eram da zona urbana. Também Cassidy e colaboradores, nos EUA observaram maior prevalência da doença por MNT nas áreas urbanas (MATOS et al., 2004; CASSIDY et al.).

Falkinham III ressalta em seus estudos a facilidade dessas micobactérias serem encontradas no meio ambiente de maneira geral, e em sistemas de distribuição de água potável e também em águas de fonte naturais; Não se considerando até o momento a possibilidade desses microrganismos serem contaminantes provenientes de outra fonte. Na realidade as MNT presentes nessas fontes, não só residem, mas são capazes de crescer, persistir e sobreviver por um longo período de tempo. Outra característica epidemiológica ressaltada no estudo de Falkinham III é a resistência dessas micobactérias aos processos de desinfecção, capacidade essa que lhes garante a persistência na água dos sistemas de abastecimento (FALKINHAM III, 1996).

De fato se observa que a população de áreas urbanas em geral depende de sistemas de distribuição de águas, interligados a grandes redes de abastecimento. A água desses sistemas pode ficar armazenada por longos períodos de tempo em tubos e reservatórios das redes de abastecimento, que uma vez habitados por MNT, propiciariam a oportunidade para a formação de biofilmes, promovendo o crescimento da micobactéria. De acordo com essa proposição, diversos autores apresentam estudos mostrando evidências da presença dessas micobactérias em diversos sistemas de distribuição de água potável nos Estados Unidos e em diversos outros países do mundo (COLLINS; GRANJE; YATES, 1984; DUMOULIN et al., 1988; VON REYN et al., 1993; 1994; YATES et al., 1986).

Um viés de diagnóstico porém, tem que ser considerado ao associar zonas urbanas e maior incidência de doenças por MNT, uma vez que, as pessoas que residem em áreas urbanas tem maior acessibilidade à assistência médica pois contam com um serviço de saúde mais disponível e melhor estruturado, que pessoas residentes em zonas rurais e assim contribuiriam para um maior número de diagnóstico.

Quanto ao grau de escolaridade, se observou entre os pacientes analisados, que mais da metade, 50,9% tinha estudado até o ensino fundamental e que 73% dos pacientes tinha renda familiar de no máximo 1 (um) salário mínimo. Dados do Censo Brasileiro de 2010 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), mostra que no País a média de anos de estudo no segmento etário que compreende as pessoas de 25 anos ou mais, foi de 7,1 anos de estudo, o que representa uma escolaridade abaixo da conclusão do ensino fundamental (IBGE, 2010). Nossa população se enquadra nessa faixa de idade.

Em relação à renda familiar, dados também do Censo 2010 mostrou que 56,8% das famílias brasileiras tinham renda entre zero e 01 salário mínimo, perfeitamente compatível com a população estudada (IBGE, 2010). A doença

pulmonar por micobactéria, seja a TB ou por MNT, apresenta fortes componentes sociais e econômicos. Pessoas com baixa renda, vivendo em comunidades urbanas densas, com precárias condições de habitação são mais propensas a infecção e ao adoecimento. Os dados dos pacientes estudados referentes à renda e grau de escolaridade ficaram portanto, representativos do universo brasileiro na atualidade.

A profissão da população estudada, se apresentou em 62,7% dos pacientes associada à maior risco de contato com fonte epidemiologicamente considerada de algum risco biológico, entretanto não houve diferença estatisticamente significativa quando o risco biológico foi relacionado com a patogenicidade da espécie de MNT associada à doença. A presença de micobactérias potencialmente patogênicas e maior risco biológico não se apresentou significativa. Quando porém, se associou a renda do grupo de pacientes com o risco de adoecimento oferecido pela atividade profissional realizada, observou-se associação significativa. Na literatura específica consultada não se obteve nenhum dado com referência a essas duas características.

Em relação ao uso de álcool na população estudada, as elevadas taxas observadas nos chamaram atenção. O uso de álcool esteve presente em 49% dos pacientes, sendo hábito mais frequente que o tabagismo que foi observado em 40% dos pacientes. Outra observação interessante foi que entre os usuários de álcool, houve predomínio do sexo feminino. Registros da epidemiologia do álcool no Brasil segundo Galduroz e Caetano, mostram taxas de uso de álcool pela população em geral em torno de 69% e prevalência de dependência de 12%, com predomínio do sexo masculino 17%, quando comparado com o sexo feminino de 6%. Nas regiões Norte e Nordeste do país a prevalência é acima de 16% (GALDUROZ; CAETANO, 2004). No presente estudo não foi possível obter dados de frequência nem de intensidade do uso de álcool, consideração semelhante para o uso de cigarro. As taxas do presente estudo, quando comparadas com os dados de Matos et al. (2004),

mostraram-se superiores. No estudo dos autores da Bahia o tabagismo foi observado em 32% dos pacientes e o uso de álcool observado em 26% dos pacientes analisados. A tentativa de associação do uso de álcool pelos pacientes e a patogenicidade da MNT mostrou predominância no grupo de pacientes com MNT potencialmente patogênica (51%), quando comparada com o grupo com MNT raramente patogênica (40%). Já quanto à presença de tabagismo se observou predomínio no grupo de pacientes com MNT raramente patogênica (55%), embora, em nenhuma das características a diferença tenha se mostrado significativa.

#### **5.4 A Metodologia PRA para a Identificação da MNT**

O material usado para o isolamento e identificação da micobactéria no presente estudo foi o escarro em 57 (96,6%) pacientes. Nos outros 02 pacientes foi usado o líquido pleural e o LBA. Também no estudo de Matos e colaboradores, bem como em outros diversos estudos revisados, o escarro é o espécime biológico mais utilizado para fins de diagnóstico da doença pulmonar por MNT, seguido do LBA e líquido pleural. (MATOS et al., 2004; CONTRERAS et al., 1988; CAMPOS et al., 1997; BARRETO; CAMPOS, 2000). Embora a doença humana por MNT seja adquirida à partir de exposição ambiental, a fonte específica de infecção geralmente é de difícil identificação, assim para a comprovação do comprometimento pulmonar é necessário que o espécime biológico provenha do local da lesão (ATS, 2007).

Segundo Motta, a avaliação do significado clínico de exames laboratoriais sejam esses exames de natureza bioquímica, moleculares ou genéticos, depende da soma de muitas variáveis. Uma das mais relevantes, diz respeito aos detalhes técnicos empregados na coleta do material, na disponibilidade de técnicos capacitados, na facilidade da técnica de execução do método e da disponibilidade do método (MOTTA, 1989). No caso da doença pulmonar por MNT assim como na TB, o escarro é o material de fácil coleta,



não invasivo e não precisa de técnicas sofisticadas de coleta, além de orientar a procura de novos casos.

No presente estudo, a escolha da Metodologia PRA para a identificação da espécie de MNT, foi baseada nas vantagens enumeradas por diversos pesquisadores, dentre elas, rapidez, baixo custo e facilidade de uso em laboratório clínico aparelhado, além de identificar um vasto número de espécies de MNT. (CHIMARA, 2008; LEÃO et al., 2005; WANG et al., 2005). Outro motivo pela escolha do PRA foi o objetivo de avaliar a sua eficiência com potencial para sua implantação rotineira em Laboratórios do Ceará.

Quanto às espécies de MNT identificadas na população estudada, observou-se grande diversidade. Foram identificadas 77 espécies de micobactérias. A mais frequente foi a *M. abscessus* presente em 17 dos 59 (29%) pacientes, seguida pelo *M. lentiflavum*, identificada em 11 (18%) pacientes e pelo *M. avium*, observada em 10 (17%) pacientes.

Na série de Matos e colaboradores, embora com número menor de pacientes e utilizando métodos convencionais para a identificação da micobactéria, as 02 espécies mais frequentes foram, a exemplo do presente estudo, o complexo *M. abscessus/M. chelonae*, em 11 (58%) dos 19 pacientes; seguida por *M. avium-intracellulare* em 03 (16%). (MATOS et al., 2004).

Outros estudos na literatura específica nacional mostram predomínio da identificação das MNT pelos métodos convencionais. Campos e colaboradores em estudo para determinação de prevalência de MNT no Brasil utilizaram dados de pacientes ambulatoriais de 13 capitais brasileiras no período de 1995 a 1996 e registraram igual frequência entre as espécies, *M. avium-intracellulare*, *M. fortuitum* e *M. kansasii* (CAMPOS et al., 1977).

Macedo e Henriques em artigo de revisão intitulado, “Infecções pós-operatórias por micobactérias de crescimento rápido no Brasil”, mostraram

resultados de identificação das espécies em surtos de infecção por MNT em diferentes estados brasileiros, com destaque para os estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Pará e Espírito Santo, os quais contribuíram com maior número de casos. A espécie de MNT predominante foi a *M. abscessus* (MACEDO; HENRIQUES, 2009).

Werneck e Campos mostraram dados que envolveram estudo em 17 estados da Federação mais o Distrito Federal e mostraram predomínio do Complexo *M. avium-intracellulare* em valores de 44,4%, seguido de *M. kansasii* 13,7%, *M. fortuitum* em 10,8% e *M. abscessus* em 9,5%. Os autores analisaram 590 amostras de escarro encaminhadas ao Laboratório de TB do Centro de Referência Prof. Hélio Fraga no período de 1994 a 1999 (WERNECK; CAMPOS, 2000).

Nas séries internacionais Wallace e colaboradores estudando 125 casos de doença por MNT de crescimento rápido, no estado do Texas, EUA, encontraram predomínio de *M. abscessus* (68%), seguido das *M. chelonae* e *M. fortuitum*. Setenta e quatro casos eram infecções cutâneas, 27 eram infecções de outros sítios. A doença pulmonar foi observada em 24 pacientes. A *M. abscessus* foi a mais frequente (68%) dos casos, seguida pela *M. chelonae* e *M. fortuitum* (WALLACE et al., 1993). No estudo de Griffith e colaboradores, foram estudados 142 pacientes com doença pulmonar por MNT. As espécies mais frequentes foram *M. abscessus* e *M. fortuitum*, que juntos eram responsáveis por 96% das espécies. (GRIFFITH et al., 1993).

Na série de Di Lonardo e colaboradores entre os 18 pacientes estudados foi observado predomínio de *M. kansasii* (9), seguido de *M. avium* (8) e *M. kansasii* associado ao *M. tuberculosis* (1) (DI LONARDO et al., 1983).

A utilização da metodologia PRA no Brasil tem a pesquisadora Chimara como pioneira. Através do PRA, a citada autora em estudo com outros colaboradores, cujo principal objetivo era a comparação dos métodos fenotípico convencional e metodologia PRA, mostrou que entre 434 isolados, as espécies

ou complexos de MNT mais comumente associadas com a doença clinicamente significativa foram o Complexo *M. avium* (146), *M. fortuitum* (21), *M. kansasii* (95) e *M. chelonae* (5), *M. gordonae* (26) e *M. abscessus* (16) (CHIMARA et al., 2008).

Um grupo de pesquisadores de Singapura, coordenados por Wang estudando 36 pacientes com suspeita de infecção por MNT de crescimento rápido utilizaram a metodologia PRA para a identificação das espécies envolvidas. Os principais objetivos dos autores era comparar a metodologia PRA e métodos convencionais na identificação da micobactéria e também explorar a viabilidade de incorporação do teste em serviço laboratorial de rotina. Concluíram os pesquisadores que ambas as técnicas identificaram de maneira similar as seguintes espécies: *M. abscessus* 23, *M. fortuitum* 11, *M. chelonae* 2 e *M. smegmatis* 2. Os autores confirmaram a metodologia PRA como técnica de precisão comparável aos métodos convencionais, sem exigir equipamentos de alto custo, além de menos tempo na técnica de identificação de MNT de crescimento rápido (WANG et al., 2005).

Castro e colaboradores estudaram 70 isolados estocados de pacientes no Instituto de Saúde da Colômbia, na cidade de Bogotá, para fins de identificação das espécies. Utilizando métodos convencionais e metodologia PRA na identificação das MNT encontraram 100% de correspondência dos dois métodos na identificação das espécies *M. terrae*, *M. szulgai*, *M. avium*, *M. chelonae* e *M. scrofulaceum*, e correspondência de 89% para as espécies *M. abscessus*, *M. gordonae* e *M. intracellulare* (CASTRO et al., 2007).

Os dados descritos de diversos estudos incluindo o presente confirmam a importância do reconhecimento das MNT de crescimento rápido como agente causador de doença pulmonar. Há estudos que mostram o *M. abscessus* como a espécie de MNT mais frequentemente observada na doença pulmonar no idoso, enquanto a *M. kansasii* é a mais freqüente nas séries que descrevem a epidemiologia da doença pulmonar por MNT e responsável principalmente por metade dos casos de infecção na pele e tecidos moles.

(WALLACE et al., 1983; PRINCE et al., 1989; GRIFFITH et al., 1993). A identificação de micobactérias ao nível de espécie é um passo crítico na gestão do paciente, pois os resultados obtidos influenciam nas decisões sobre a terapia ideal e da necessidade de isolamento dos pacientes.

O estudo das comorbidades associadas à doença pulmonar por micobactéria não tuberculosa evidencia e valoriza na sua grande maioria, situações clínicas coexistentes consideradas fatores potenciais de risco para o adoecimento por MNT, uma vez que essas micobactérias são consideradas patógenos oportunistas. Estudos iniciais na epidemiologia das MNT apontavam que a doença pulmonar ocorreria mais freqüentemente entre a população de imunossuprimidos, como os pacientes com AIDS, ou em uso de drogas imunossupressoras, pacientes submetidos a transplantes e portadores de doenças linfoproliferativas. (FALKINHAM III, 1996; BODLE et al., 2008).

Estudos posteriores, no entanto chamaram atenção para a doença por MNT também em grupos de pacientes não imunossuprimidos. Os epidemiologistas reconhecem de maneira quase unânime que nesse tipo de paciente é importante, reconhecer outros fatores de risco associados a maior chance de adoecimento por MNT. As lesões pulmonares preexistentes, que cursam com danos estruturais são importantes facilitadores para o desenvolvimento de doença pulmonar por MNT (GRIFFITH et al., 1993). Assim, pacientes que apresentam doenças pulmonares crônicas com alterações estruturais, como bronquiectasias associadas ou não à TB prévia, fibrose cística, cistos, e massas pulmonares, têm maior chance de adoecimento por MNT (WINTHROP et al., 2010; SAFDAR et al., 2003; WALLACE et al., 1983).

Na nossa população estudada a presença de doenças associadas foi considerada baixa, observada somente em 23 (39%) pacientes, diferente dos relatos da literatura. Dentre as patologias relatadas pelo grupo de pacientes as que poderiam influenciar ou favorecer a ocorrência de doença por MNT destacaram-se a Diabetes Mellitus em 05 (22%) pacientes e AIDS em 04 (17%). Porém, em nosso estudo a presença de alterações estruturais

pulmonares, determinada pelo passado de adoecimento por tuberculose pulmonar foi característica observada na maioria dos pacientes (54%). Este fato chama a atenção para a possibilidade de infecção por MNT em paciente com antecedentes de TB tratada, quando residentes em países de alta prevalência de TB pulmonar. Quando se associou esses dados com a patogenicidade da MNT observou-se predomínio nos pacientes com MNT potencialmente patogênica, embora essa associação não tenha se apresentado signicante, fato não ocorrido quando se associou a presença de comorbidades e risco biológico inerente à profissão, que mostrou-se significante.

Em estudo populacional realizado em Portland, Oregon, EUA, realizado nos anos de 2005 e 2006, Winthrop e colaboradores analisaram 807 moradores com um ou mais isolados respiratórios com MNT. Desses, 407 pacientes eram residentes de zona urbana. Duzentos e oitenta três tinham prontuário disponível para revisão. A doença pulmonar foi diagnosticada em 134 pacientes. Cinquenta e dois pacientes tinham DPOC, 30 apresentavam bronquiectasia, 13 pacientes com Diabetes Mellitus e 47 pacientes estavam em tratamento com imunossupressores (WINTHROP et al., 2010).

Na série de Matos e colaboradores, 100% dos pacientes tinham relato de história prévia de TB. Quinze do total de 19 pacientes relatavam doença pulmonar preexistente: bronquiectasia (01), silicose (3), complicações de TB (11) dentre outras (MATOS et al., 2004).

A análise do teste tuberculínico e da sorologia HIV na população estudada, mostrou que a maioria dos prontuários não apresentava registro de realização do teste tuberculínico, contrastando com o da sorologia anti HIV, onde em 62,7% havia o registro da realização do teste; em 04 (12%) pacientes a sorologia foi positiva e em 89% dos pacientes o resultado foi negativo.

Na série do grupo baiano todos os pacientes realizaram sorologia anti HIV. Dezoito (95%) pacientes foram soronegativos e somente um foi

soropositivo. Os autores não relataram realização de teste tuberculínico na série estudada. (MATOS et al., 2004).

O estudo da doença por MNT no homem pode ser dividida em duas grandes etapas, antes e depois da síndrome de imunodeficiência adquirida. O impacto inicial na morbidade e mortalidade de pacientes com Aids determinado pela doença por MNT, principalmente na forma disseminada impulsionou grande progresso no estudo dessas micobactérias. A solicitação da sorologia anti HIV é conduta obrigatória em todo paciente com diagnóstico ou suspeita de TB e doença por MNT. No presente estudo, embora a maioria dos pacientes que realizaram o teste, este se apresentou negativo, a associação do resultado com a patogenicidade da espécie evidenciou predomínio de HIV positivo em pacientes com MNT raramente patogênica, sem no entanto, mostrar significância estatística.

O teste tuberculínico é um exame complementar que pode ser utilizado na investigação da infecção pelo *M. tuberculosis*, e vem sendo usado desde 1908 (VON REYN et al., 1994). Mesmo reconhecendo a sua baixa especificidade e sua inabilidade em distinguir indivíduos infectados pelo MTB dos vacinados com o Bacilo de Calmette-Guérin (BCG) e da reação cruzada com micobactérias não tuberculosas, o teste continua sendo usado até hoje. Sua interpretação pode ser prejudicada em países como o Brasil, que adotam a vacinação pelo BCG obrigatória. Cerca de 60-90% das pessoas vacinadas podem ser identificadas como falso-positivas ao teste tuberculínico. Resultados falso-negativos também são frequentes, principalmente, em pacientes com TB disseminada, desnutrição severa, infecção por HIV ou terapia imunossupressiva (BRASIL, 2002). A história prévia de TB quando presente em um paciente com suspeita de doença por micobactéria faz com que a maioria dos profissionais não solicite sua realização, pressupondo que uma vez o indivíduo tenha adoecido por tuberculose, apresentará resposta positiva ao teste. Adicionalmente aos problemas acima citados, existem outras dificuldades associadas ao pequeno número de solicitação do teste tuberculínico pelos profissionais da saúde, como a necessidade do teste ser realizado por

profissional treinado e necessidade de retorno numa data especificada para leitura do exame. O necessário retorno em tempo hábil para a leitura do TT é um problema na maioria dos países. Em estudo realizado nos EUA, entre pacientes portadores de HIV, apenas 35% retornaram para leitura (CHAISSON et al., 1996). Esses provavelmente são os possíveis motivos da baixa realização do teste tuberculínico observado em nosso estudo e também na série de Matos e cols. onde todos os pacientes apresentaram histórico prévio de TB.

Analisando os sintomas clínicos dos pacientes estudados, foi observado que a tosse e a expectoração predominaram entre as queixas respiratórias, e o emagrecimento e a febre foram as mais frequentes queixas sistêmicas registradas, a exemplo do que se observa nas diversas séries da literatura. (MATOS et al., 2004; BODLE et al., 2008; KENNEDY; WEBER, 1994; GRIFFITH et al., 1993). A dispnéia foi sintoma pouco referido pelos pacientes em nosso estudo, contrastando com os dados apresentados por Matos e colaboradores, bem como por Griffith e colaboradores, onde este sintoma foi referido como frequente. Vale ressaltar, porém, que a dispnéia é um sintoma que habitualmente aparece em função do maior comprometimento e destruição do parênquima pulmonar, sinalizando geralmente maior gravidade da doença. A presente série mostrou taxa de cura em mais da metade dos pacientes, o que pode ser entendido como casos não graves e por esse motivo a dispnéia não foi sintoma relevante.

É importante ressaltar também que embora, a tosse e a expectoração tenham sido as queixas predominantes, na sintomatologia referida pelo grupo de pacientes estudados, estes sintomas têm baixa especificidade em relação às doenças pulmonares. Quando confrontados com a patogenicidade da micobacteria evidenciamos que também não foram significantes para discriminar a patogenicidade da micobactéria envolvida na doença. Quanto aos sintomas sistêmicos embora o emagrecimento e a febre tenham sido os mais frequentes, eles se apresentaram em 27% e 13% dos pacientes, respectivamente. Mostrando que o paciente com doença pulmonar

por MNT é um sintomático respiratório com poucas repercussões constitucionais.

De acordo com a literatura, a apresentação clínica da doença pulmonar por MNT na maioria dos pacientes tem um curso clínico insidioso muito semelhante ao acometimento pulmonar da tuberculose (MELLO, 2010). Outro quadro que lembra bastante a doença pulmonar por micobacteriose é o das bronquiectasias, sendo razoável, portanto considerar que alguns dos pacientes de fato desenvolvam bronquiectasia como resultado da doença pulmonar por MNT, bem como não é incorreto considerar que pacientes com bronquiectasias tenham maior chance de adoecimento por MNT (GRIFFITH et al., 1993).

O padrão de apresentação radiológica nos pacientes estudados mostrou que a fibrose estava presente na maioria dos pacientes analisados (71%). Importante ressaltar que no critério radiológico utilizado, o achado de fibrose foi consignado diante da referência escrita no laudo, independente da extensão do achado. Outra consideração não menos importante é o fato de que na época da coleta de dados não se separou os achados quando presentes em laudo de Radiografia de tórax ou de Tomografia Computadorizada do tórax. Em seguida, observaram-se como mais frequentes a cavidade e a bronquiectasia. O achado menos freqüente foi o nódulo.

A doença pulmonar por MNT pode se apresentar através de diversos achados radiológicos, mas as duas formas, mais comuns, em indivíduos imunocompetentes, são a forma cavitária e a caracterizada por nódulos e bronquiectasias (MELLO, 2002). Na série de Matos, o achado mais observado foi a cavidade, seguida do padrão nodular. Resultados de Griffith e colaboradores mostraram predomínio de padrão intersticial do tipo nodular, seguida pela cavidade e bronquiectasia (GRIFFITH et al., 1993). Em relação à distribuição das lesões, o comprometimento pulmonar foi multilobular em 50% dos casos segundo a descrição de Griffith (GRIFFITH et al., 1993). Comprometimento não relatado por Matos e colaboradores. No presente



estudo o comprometimento multilobular também foi predominante, sendo observado em 58% dos pacientes.

A tentativa de associar os achados radiológicos mais frequentes com a patogenicidade da espécie identificada no presente estudo não se mostrou significativa. De fato, embora a utilização da imagem radiológica tenha tido grande impacto no diagnóstico das doenças pulmonares, incluindo a tuberculose, os achados observados na TB são inespecíficos e variam conforme a evolução da lesão tuberculosa. A lesão inicial caracterizada por pequenas opacidades nodulares é seguida por envolvimento do lobo. As pequenas opacidades podem caseificar e favorecer aparecimento de imagens cavitárias. A evolução mais frequente da TB cavitária é a presença de opacidades acinares, denominadas de lesões satélites. Na doença pulmonar por MNT por ocorrerem em pulmões estruturalmente comprometidos, muitas vezes sequelados de TB prévia mostram achados semelhantes, portanto, variáveis e inespecíficos conforme o momento do diagnóstico da tuberculose prévia, não obrigatoriamente gerados da doença pulmonar pela MNT.

O desfecho da doença por MNT até o encerramento da coleta de dados, no presente estudo, mostrou que 32 (52%) pacientes obtiveram alta ambulatorial por cura. Entretanto o percentual de óbitos, até o final do estudo, foi 15%, observado em 09 pacientes, considerado alto. Nossos achados estão compatíveis com os observados na literatura. Na série de Di Lonardo e colaboradores, 39% dos pacientes tiveram curso favorável (melhora ou doença estacionada), 28% com curso desfavorável (piora, complicação e falência) (DI LONARDO et al., 1983). Se considerássemos nossos resultados à luz da análise do grupo argentino, o montante de pacientes com curso favorável no presente estudo seria 45 (76,3%) pacientes. Wallace e colaboradores em sua série de 24 pacientes com doença pulmonar por MNT observaram 9% de óbito (WALLACE et al., 1983). Griffith e colaboradores registraram óbito em 31 (48%) pacientes (GRIFFITH et al., 1993). Quando se associou o desfecho com a patogenicidade da MNT, observou-se que pacientes com MNT potencialmente

patogênica, apresentaram um percentual de cura superior (57,8%) ao de pacientes com MNT raramente patogênica (42,9%).

Embora não estivesse nos objetivos desse estudo é impossível não relacionar alta curada com o tratamento instituído. Assim observa-se que na literatura há poucos estudos controlados desenvolvidos em seres humanos que abordem esse tema. Há alguns anos uma classificação prática apresentada por Bailey dividia as espécies em dois grupos: Fácil (ex. *M. kansasii*) e difícil (ex. complexo *MAC*) de tratar (BAILEY, 1983).

Os estudos disponíveis, porém, não consideram tão simples o tratamento e recomendam a observação de três fatores que devem nortear a decisão pela terapêutica na doença pulmonar por MNT: a carga bacilar, a espécie isolada e a presença de progressão clínica e/ou radiológica da doença (GLASSROUTH, 2008). Existem ainda dificuldades para o estabelecimento de esquemas terapêuticos adequados, levando-se em conta que diferentes espécies de MNT têm distintos perfis de susceptibilidade a antimicrobianos. No momento em nível internacional, as recomendações terapêuticas são baseadas no relato de séries de casos, e considerando-se as experiências dos tratamentos do complexo *MAC* e do *M. kansasii*, os quais constituem a maior parte dos casos descritos na literatura. Estudos desenvolvidos em animais de experimentação demonstraram a importância do emprego de mais de uma droga para que se retarde o aparecimento de resistência durante a vigência do curso terapêutico. As recidivas são comuns. Finalmente, resta informar que a doença localizada especialmente com resposta ruim aos medicamentos pode se beneficiar da ressecção cirúrgica.

No presente estudo, tínhamos expectativas quanto à possibilidade de encontrar associações significantes entre a patogenicidade da espécie e as diversas variáveis demográficas e clínicas, pois constatamos predomínio percentual na associação da espécie de MNT ora potencialmente patogênica, ora raramente patogênica, como observadas a seguir: Potencialmente patogênica nas variáveis: profissão, uso de álcool, história prévia de TB, sintomas

sistêmicos, achado radiológico de cavidade e desfecho favorável (cura/em tratamento). No grupo das MNT raramente patogênicas, predomínio observado nas variáveis: sexo, renda familiar, tabagismo, teste tuberculínico, procedência, comorbidades, sintomas respiratórios, achado radiológico de fibrose, sorologia anti HIV e desfecho desfavorável (óbito), embora, esse predomínio não tenha se traduzido em significância. Um dos fatores a serem considerados é o tamanho da amostra. Cinquenta e nove pacientes, embora tenha se constituído uma das maiores série institucionais, tanto no Brasil, quanto na Literatura internacional consultada, poderia ter sido maior. Novos estudos, portanto devem ser conduzidos para esclarecimentos, ou confirmação dos resultados observados no presente estudo.

## 6 CONCLUSÃO

O estudo dos aspectos clínicos e epidemiológicos de pacientes com doença pulmonar e pleural por MNT e da diversidade de espécies de micobactérias não tuberculosas identificadas pela metodologia PRA nas condições do presente estudo, permite concluir:

1- As espécies de MNT mais frequentemente identificadas foram a *M. abscessus*, *M. lentiflavum* e *M. avium*.

2- A metodologia PRA foi útil na identificação das espécies de MNT.

3- O número de diagnóstico de doença pulmonar por MNT apresentou tendência crescente nos 10 anos de estudo.

4- A profissão com risco biológico guarda associação com o sexo feminino, com renda familiar de no máximo 01 salário mínimo e com a presença de doença associada.

5- A classificação da espécie, não pareceu contribuir como fator determinante na definição de que tipo de paciente adoece por MNT.

6- O perfil dos pacientes com doença pulmonar por MNT pode ser definido como: indivíduo do sexo feminino, idade em torno dos 50 anos, baixo grau de escolaridade, renda familiar de até 01 salário mínimo; com sintomas de tosse e expectoração; pouca repercussão constitucional; apresenta achados radiológicos evidenciando fibrose e cavidades e evolui de maneira ainda limitada ao tratamento.

## **7 RECOMENDAÇÃO**

Pela importância epidemiológica da doença pulmonar por MNT na atualidade e pela necessidade da diferenciação diagnóstica com os casos de tuberculose, que tem tratamento específico, o presente estudo recomenda:

- 1 Implantação de um método de identificação das MNT, destacando o método PRA, na rotina de laboratórios do estado do Ceará.
- 2 Atenção para o atendimento de pacientes com tuberculose com refratariedade ao tratamento instituído; Além da consideração da multirresistência, pensar também da concomitância ou mesmo isoladamente a infecção por MNT.

## REFERÊNCIAS

- AHN, C.H.; LOWELL, J.R.; ONSTAD, G.D.; AHN, S.S.; HURST, G. A. Elimination of *Mycobacterium intracellulare* from sputum after bronchial hygiene. **Chest**, v. 76, p. 480-482, 1979.
- AHN, C.H.; LOWELL, J.R.; ONSTAD, G.D.; SHUFORD, E.H.; HURST, G.A. A demographic study of disease due to *Mycobacterium kansasii* or *Mycobacterium intracellulare-avium* in Texas. **Chest**, v. 75, p. 120–125, 1979.
- AHN, C.H.J.; MCLARTY, J.W.; AHN, S.S.; HURST, G.A. Diagnostic criteria for pulmonary disease caused by *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium intracellulare*. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 125, p. 388-391, 1982.
- ALBEDA, S.M.; KERN, J.A.; MARINELLI, D.L.; MILLER, W.T. Expanding spectrum of pulmonary disease caused by non tuberculous mycobacteria. **Radiology**, v. 157, p. 289-296, 1985.
- AMERICAN THORACIC SOCIETY. Diagnosis and Treatment of Disease Caused by Nontuberculous Mycobacteria. **Am. J. Resp. Crit. Care Med.**, v. 156, p. S1-S25, 1997.
- AMERICAN THORACIC SOCIETY. Diagnosis, Treatment and Prevention of Nontuberculous Mycobacteria Diseases. **Am. J. Resp. Crit. Care Med.**, v. 175, p. 367–416, 2007.
- ANDERSON, C.; INHABER, N.; MENZIES, D. Comparison of sputum induction with fiber-optic bronchoscopy in the diagnosis of tuberculosis. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v.152, p. 1570–1574, 1995.
- ANDRADE, L. Infecção pulmonar por *Mycobacterium scrofulaceum*. **J. Pneumol.**, v. 12, n. 13, p. 175-179, 1986.
- ANDRADE, L. Micobactérias atípicas – Micobacterioses. Etiopatogenia, diagnóstico, tratamento e epidemiologia. **J. Pneumol.**, v. 12, n. 4, p. 241-248, 1986.
- ANDRADE, L. Micobacterioses no Brasil. **Rev. Div. Nac. Tuberc.**, v. 20, n. 78, p. 97-105, 1976.
- ANDRADE, L.; SANTIAGO, A.C. Micobactérias não tuberculosas (atípicas) na Guanabara. **Rev. Ser. Nac. Tuberc.**, v. 16, p. 124-145, 1971.

ANVISA. **Infecções por micobactérias de crescimento rápido**: fluxo de notificações, diagnósticos clínico, microbiológicos e tratamento. 2009. (nota técnica conjunta nº 01/2009 - SVS/MS e ANVISA). Disponível em: <[HTTP://www.anvisa.gov.br/hotsite\\_micobacteria/nota\\_tecnica\\_conjunta.pdf](http://www.anvisa.gov.br/hotsite_micobacteria/nota_tecnica_conjunta.pdf)> Acesso em: 22 abr. 2012.

ARANAZ , A.; COUSINS, D.; MATEOS, A.; DOMINGUEZ, L. Elevation of *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *Caprae* Aranaz et al. 1999 to species rank as *Mycobacterium caprae* comb. nov., sp. nov. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, v. 53, p. 1785-1789, 2003.

ARANAZ, A.; LIEBANA, E.; GOMEZ-MAMPASO, E.; GALAN, J.C.; COUSINS, D.; ORTEGA, A.; BLAZQUEZ, J.; BAQUERO, F.; MATEOS, A.; SUAREZ, G.; DOMINGUEZ, L. *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *Caprae* subsp. Nov.: a taxonomic study of a new member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex isolated from goats in Spain. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v. 49, p. 1263-1273, 1999.

ASKAMIT, T., R. *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease in patients with pre-existing lung disease. **Clin. Chest Med.**, v. 23, p. 643-653, 2003.

AU, W.Y.; CHENG, V.C.; HO, P.L.; YUEN, K.Y.; HUNG, I.; MA, S.Y.; LIE, A.K.W.; LIANG, R.; KWONG, Y.L. Nontuberculous mycobacterial infections in Chinese hematopoietic stem cell transplantation recipients. **Bone Marrow Transplant**, v. 32, p. 709-714, 2003.

AWE, R.J.; GANGADHARAM, P.R.J.; JENKINS, D.E. Clinical significance of *Mycobacterium fortuitum* infections in pulmonary disease. **Am. Rev. Resp. Dis.**, v. 108, p. 1230-1234, 1973.

AZULAY, R.D.; NEVES, R.G.; ESTRELA, R.R.; ANDRADE, L.; THOMAS, E.M. Complexo primário cutâneo-ganglionar por *Mycobacterium fortuitum*. **Rev. Ass. Med. Bras.**, v. 20, n. 5, p. 177-181, 1974.

BAILEY, W.C. Treatment of atypical mycobacterial disease. **Chest**, v. 84, n. 5, p. 625, 1983.

BARRETO, A.M.W.; CAMPOS, C.E.D. Micobactérias “não tuberculosas” no Brasil. **Bol. Pneum Sanit.**, v. 8, n. 1, p. 23-32, 2000.

BARRETO, A.M.W.; MARTINS, F.M.; CAMPOS, C.E.D.; GERHARDT, G.; ASENSI, M.D.; CUNHA, E.A.T.; FERREIRA, R.M.C.; GUERRA C.; JARDIM, S.B.V.; MATUSIAK, R.; RAMALHOTO, A.M.; SEWENTES, I.; SILVA, A.A.; SOUZA, M.E.M.; SOUZA, M.J.; VALE, S.F. Frequencia de doença pulmonar crônica nos casos de micobacterioses ocorridos no Brasil no período de 1989 a 1991. **J. Pneumol.**, v. 18, n. 2, p. s119, 1992.

BARRETO, J.A.; PALACI, M.; FERRAZOLI, L.; MARTINS, M.C.; SULEIMAN, J.; LORENÇO, R.; FERREIRA, O.C.; RILEY, L.W.; JOHNSON, W.D.; GALVÃO, P.A. Isolation of *Mycobacterium avium* complex from bone marrow aspirates of Aids patients in Brazil. **J. Infect. Dis.**, v. 68, p. 777-779, 1993.

BARRY, C.E. Interpreting cell wall 'virulence factors' of *mycobacterium tuberculosis*. **Trends Microbiol.**, v. 19, p. 237-241, 2001.

BATES, D.V. **Titulo da parte lida.** In: BATES, D. V.; MACKLEM, P. T.; Christie, R. V. **Respiratory function in disease:** An introduction to the integrated study of the lung. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1989. p. 584.

BATES, J.H. A study of pulmonary disease associated with mycobacteria other than *Mycobacterium tuberculosis*. Clinical characteristics. A report of the veterans Administration Armed Forces cooperative study on the chemotherapy of tuberculosis. **Am. Rev. Resp. Dis.**, v. 96, p. 1151-1157, 1968.

BODIE, D.; SCHLUGER, N.W. The Diagnosis of Tuberculosis. **Clin. Chest Med.**, v. 26, p. 247-271, 2005.

BODLE, E.E.; CUNNINGHAM, J.A.; DELLA-LATA, P.; SCHLUGER, N.W.; SAIMAN, L. Epidemiology of mycobacterial in patients without HIV infection, New York City. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 14, p. 390-396, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Controle da Tuberculose:** uma proposta de integração ensino-serviço. 5. ed. Rio de Janeiro, 2002b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de saúde. **Manual Técnico para o Controle da tuberculose:** cadernos de atenção básica. Brasília, 2002a.

BRENNAN, J.P.; DRAPER, P. Ultrastructure of *Mycobacterium tuberculosis*. In: BLOOM, B. R. (Ed.). **Tuberculosis:** Pathogenesis, Protection and control. Washington, DC: ASM press, 1994. p. 271-284.

BRITO A. C. **Estudo fenotípico e molecular de micobactérias de crescimento rápido de interesse em Saúde Pública.** 86 p. 2008. Tese (doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008 .

BRITO, R.C.; GOUNDER, C.; LIMA, D.B.; SIQUEIRA, H.; CAVALCANTI, H.B.; PEREIRA, M.M.; KRITSKI, A.L. Resistência aos medicamentos antituberculose de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* isoladas de pacientes atendidos em hospital geral de referência para tratamento de AIDS no Rio de Janeiro. **J. Bras. Pneumol.**, v. 30, n. 4, p. 335-342, 2004.

BROOKER, W.J.; AUFDERHEIDE, A.C. Genitourinary tract infections due to atypical mycobacteria. **J. Urol.**, v. 124, p. 242-244, 1980.



BROSCH, R.; GORDON, S.V.; MARMIESSE, M.; BRODIN, P.; BUCHRIESER, C.; EIGLMEIER, K.; GAMIER, T.; GUTIERREZ, C.; HEWINSON, G.; PARSONS, I.M.; PYM, A.S.; SAMPER, S.; VAN SOOLINGEN, D.; COLE, S.T. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 99, p. 3684 -3689, 2002.

BROWN-ELLIOTT, B. A.; WALLACE, R.J. Clinical and taxonomic status of pathogenic nonpigmented or late-pigmenting rapidly growing mycobacteria. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 15, p. 716-746, 2002.

BUTLER, W.R.; GUTHERTZ, L.S. Mycolic acid analysis by high performance liquid chromatography for identification of *Mycobacterium species*. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 14, p. 704–726, 2001.

BUTLER, W.R.; THIBERT, L.; KILBURN, J.O. Identification of *Mycobacterium avium* complex strains and some similar species by high-performance liquid chromatography. **J. Clin. Microbiol.**, v. 30, p. 2698-2704, 1992.

CAI, L.; CHEN, X.; ZHAO, T.; DING, B. C.; ZHANG, J. Z. Identification of *Mycobacterium marinum* 65 kD heat shock protein gene by polymerase chain reaction restriction analysis from lesions of swimming pool granuloma. **Chin. Med. J.**, v. 119, n. 1, p. 43-48, 2006.

CAMPOS, H.S. Manejo da doença micobacteriana não-tuberculosa. **Bol. Pneumol. Sanit.**, v. 8, n. 2, p. 39-50, 2000.

CASANOVA, J.L.; JOUANGUY, E.; LAMHAMED, S.; BLANCHE, S.; FISCHER, A. Immunological conditions of children with disseminated BCG infection. **Lancet**, v. 346, p. 581-581, 1995.

CASSIDY, M.P.; HEDBERG, K.; SAULSON, A.; McNELLY, E.; WINTHROP, K. L. Non-tuberculous mycobacterial disease prevalence and risk factors: a changing epidemiology. **Clin. Infect. Dis.**, v. 49, p. e124-e129, 2009.

CASTRO, C.M.; PUERTO, G.; GARCÍA, L.M.; ORJUELA, D.L.; POLO, C.L.; GARZÓN, M.C.; RIBÓN, W. Molecular identification of non-tuberculous mycobacteria. **Biomédica**, v. 27, n. 3, p. 439-446, 2007.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Nontuberculous mycobacteria reported to the public health laboratory information system by state public health laboratories: United states, 1993-1996.** Disponível em: <[United States, 1993–1996. cdc.gov/ncidod/dastlr/mycobacteriology.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dastlr/mycobacteriology.htm)>. Acesso em: 30 Apr. 2011.

CHAISSON, R.E.; KERULY, J.C.; MCAVINUE, S.; GALLANT, J.E.; MOORE, R.D. Effects of an incentive and education program on return rates for PPD test reading in patients with HIV infection. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.**, v. 11, n. 5, p. 455-459, 1996.

CHAN, E.D.; KONG, P.M.; FENNELLY, K.; DWYER, A.P.; ISEMAN, M.D. Vertebral osteomyelitis due to infection with nontuberculous *Mycobacterium* species after blunt trauma to the back: three examples of the principle of locus minoris resistentia. **Clin. Infect. Dis.**, v. 31, p. 1506–1510, 2001.

CHAPMAN, J.S. Atypical mycobacterial infections: pathogenesis, clinical manifestations and treatment. **Med. Clin. North Am.**, v. 51, p. 503-517, 1967.

CHIMARA, E. **Avaliação de métodos moleculares para identificação de micobactérias e elaboração de um algoritmo de identificação.** 2005. 134 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2005.

CHIMARA, E.; FERRAZOLI, L.; UEKY, S.Y.M.; MARTINS, M.C.; DURHAM, A.M.; ARBEIT, R.D.; LEÃO, S.C. Reliable identification of mycobacterial species by PCR-restriction enzyme analysis (PRA)-*hsp65* in a reference laboratory and elaboration of a sequence-based extended algorithm of PRA-*hsp65* patterns. **BMC Microbiol.**, v. 8, p. 48, 2008.

CHIMARA, E.; GIAMPAGLIA, C.M.S.; MARTINS, M.C.; TELLES, M.A.S.; UEKI, S.Y.M.; FERRAZOLI, L. Molecular Characterization of *Mycobacterium kansasii* Isolates in the State of São Paulo between 1995-1998. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 7, p. 739-743, 2004.

CHIN, C.Y.; CHEN, H.Y.; CHOU, C.H.; HUANG, C.T.; LAI, C.C.; HSUEH, P.R. Pulmonary infection caused by nontuberculous mycobacteria in a medical center in Taiwan, 2005–2008. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 72, n. 1, p. 47-51, 2012.

CHIN, D.P.; REINGOLD, A.L.; STONE, E.N.; VITTINGHOFF, E.; HORSBURGH, C.R.; SIMON, E.M.; YAJKO, D.M.; HADLEY, W.K.; OSTROFF, S.M.; HOPEWELL, P.C. The impact of *Mycobacterium avium* complex bacteremia and its treatment on survival of AIDS patients- a prospective study. **J. Infect. Dis.**, v. 170, p. 578-584, 1994.

CHUNG, M.S.; GOLDSTEIN, M.H.; DRIEBE, W.T.; SCHWARTZ, B.H. *Mycobacterium chelonae* keratitis after laser in situ keratomileusis successfully treated with medical therapy and flap removal. **Am. J. Ophthalmol.**, v. 129, p. 382-384, 2000.

COLLINS, C.H.; GRANJE, J.M.; YATES, M.D. Identification of species. In: **AUTORES???** **Tuberculosis bacteriology:** organization and Practice. 2<sup>nd</sup> ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1997. p. 39.

COLLINS, C.H.; GRANJE, J.M.; YATES, M.D. Mycobacteria in water. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 57, p. 193-211, 1984.

CONDE, M.B.; FIGUEIRA, C.M.; MORAES, R.; FONSECA, L.S.; DERIEMER, K.; KRITSKI, A.L. Predictive value of the acid fast smear for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory specimens in reference center of Aids/HIV in Rio de Janeiro, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 787-790, 1999.

CONTRERAS, M.A.; CHEUNG, O.T.; SANDERS, D.E.; GOLDSTEIN, R.S. Pulmonary infection with nontuberculous mycobacteria. **Am. Resp. Dis.**, v. 137, p. 149-152, 1988.

CORBETT, E.L.; BLUMBERG, L.; CHURCHYARD, G.J.; MOLOI, N.; MALLORY, K.; CLAYTON, T.; WILLIAMS, B.G.; CHAISSON, R.E.; HAYES, R.J.; DE COCK, K.M. Nontuberculous mycobacteria: defining disease in a prospective cohort of South African miners. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 160, p. 15–21, 1999.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. Micobactérias patogênicas do grupo III de Runyon. Ocorrência em enfermos no Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, v. 41, p. 135-139, 1974.

COSTA, A.R.F.; LOPES, M.L.; FURLANETO, I.P.; SOUSA, M.S.; LIMA, K.V.B. Molecular identification of nontuberculous mycobacteria isolates in a Brazilian mycobacteria reference laboratory. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 68, p. 390-394, 2010.

COUSINS, D.V.; BASTIDA, R.; CATALDI, A.; QUSE, V.; REDROBE, S.; DOW, S.; DUIGNAN, P.; MURRAY, A.; DUPONT, C.; AHMED, N.; COLLINS, D.M.; BUTLER, W.R.; DAWSON, D.; RODRIGUEZ, D.; LOUREIRO, J.; ROMANO, M.I.; ALITO, A.; ZUMARRAGA, M.; BERNARDELLI, A. Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium pinnipedii* sp. nov. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, v. 53, p. 1305-1314, 2003.

COVERT, T.C.; RODGERS, A.L.; REYES, A.I.; STELMA, G.N. Occurrence of nontuberculous mycobacteria in environmental samples. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 65, p. 2492-2496, 1999.

**A partir daqui a autora do trabalho terá que fazer os seguintes ajustes, a saber: colocar ponto e vírgula (;) entre os autores, colocar ponto (.) na abreviatura do nome das revistas e colocar vírgula (,) depois que terminar o nome da revista separando do volume. É só ver como fiz nas referências anteriores. É um mero trabalho de digitação. A lista está na ordem alfabética,**

CROW, H.E.C., KING, C.T., SMITH, E., CORPE, R.F., STERGUS, I. A limited clinical, pathologic and epidemiologic study of patients with pulmonary lesions associated with atypical acid-fast bacilli in the sputum. **Am Rev Tuberc.** v. 75, p. 199-222, 1957.

CRUZ, J.C. *Mycobacterium fortuitum* um novo bacilo ácido resistente patogênico para o homem. **Acta med.** v. 1, p. 297-301, 1938.

DAFFÉ, M., DRAPER, P. The envelope layers of mycobacteria with reference to their pathogenicity. **Adv Microb Physiol.** v. 39, p. 131-203, 1998.

DALEY, C.L.; GRIFFITH, D. E. Pulmonary non-tuberculous mycobacterial infections. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 14, n. 6, p. 665-671, 2010.

DANTEC, L., DUGUET, J.P., MONTIEL, A., DUMOUTIER, N., DUBROU, S., VICENTE V. Occurrence of mycobacteria in water treatment lines and in water distribution system. **Appl Environ Microbiol.** v. 68, p. 5318-5325, 2002.

DAVIDSON, P.T. The diagnosis and management of disease caused by *M. avium* complex, *M. kansasii*, and other mycobacteria. **Clin. Chest Med.**, v. 10, n. 3, p. 59-63, 1989.

DAVIDSON, P.T., KHANIJO, V., GOBLE, M., MOULDING, T.S. Treatment of disease due to *Mycobacterium intracellulare*. **Rev Infect Dis.** v. 3, p. 1052-1059, 1981.

DAWSON, D.J., JENNIS, F. Mycobacteria with a growth requirement for ferric ammonium citrate, identified as *Mycobacterium haemophilum*. **J Clin Microbiol.** v.11, p. 190-192,1980.

DE GROOTE, M.A., HUITT, G. Infections due to rapidly growing mycobacteria. **Clin Infect Dis.** v. 42,p. 1756-1763, 2006.

DE GROOTE, M.A., PACE, N.R., FULTON, K., FALKINHAM, J.O. Relationships between *Mycobacterium* isolates from patients with pulmonary mycobacterial infection and potting soil. **Appl Environ Microbiol.** v. 72, p. 7602-7606, 2006.

DEVALLOIS, A., GOH, K.S., RASTOGI, N. Rapid identification of mycobacteria to species level by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of the hsp65 gene and proposition of an algorithm to differentiate 34 mycobacteria species. **J Clin Microbiol.** v. 35, p. 2969-2973, 1997.

DI LONARDO, M., ISOLA, N.C., AMBROGGI, M., FULLADOSA, G., KANTOR, I.N. Enfermedad producida por micobacterias no tuberculosas em Buenos Aires, Argentina. **Bol Oficina Sanit Panam.** v. 95, p 134-141, 1983.

DOUCETTE, K., FISHMAN, J.A. Nontuberculous mycobacterial infection in hematopoietic stem cell and solid organ transplant recipients. **Clin Infect Dis.** v. 38, p. 1428-1439, 2004.

DUARTE, C. L.; LOURENÇO, M.C.; FONSECA, L.D.; LEÃO, S.C.; AMORIM, E.L.T.; ROCHA, I. L. L.; COELHO, F. S.; VIANA-NIERO, C.; GOMES, K. M.; SILVA, M. G.; LORENA, N. S. O.; PITOMBO, M. B.; FERREIRA, R. M. C.; GARCIA, M.H.O.; OLIVEIRA, G. P.; LUPI, O.; VILAÇA, B. R.; SERRADAS, L. R.; CHEBABO, A.; MARQUES, E. A.; TEIXEIRA, L. M.; DALCOMO, M.; SENNA, S. G.; SAMPAIO, J. L. M. Epidemic of postsurgical infections caused by *Mycobacterium massiliense*. **J. Clin. Microbiol.**, v. 47, n. 7, p. 2149-2155, 2009.

DUBNAU, E., CHAN, J., RAYNAUD, C., MOHAN, V.P., LANELEE, M.A., YU, K., QUEMARD, A., SMITH, I., DAFPE, M. Oxygenated mycolic acids are necessary for virulence of *mycobacterium tuberculosis* in mice. **Mol microbial.** v. 36, p. 630-637, 2000.

DUMOULIN, G.C., STOTTMEIER, K.D., PELLETIER, P.A., TSANG, A.Y., HEDLEY-WHYTE, J. Concentration of *Mycobacterium avium* by hospital hot water systems. **JAMA** v. 260, p.1599–1601, 1988.

CKBURG, P.B., BUADU, E.O., STARK, P., SARINAS, P.S., CHITKARA, R.K., KUSCHNER, W.G. Clinical and chest radiografic findings among persons with sputum culture positive for *M. Gordonae*. **Chest.** v. 117, p. 96-102, 2000.

EDWARDS, L.B., PALMER, C.E. Epidemiologic studies of tuberculin sensitivity: preliminary results with purified protein derivates prepared from atypical acid-fast organisms. **Am J Hyg.** v. 68, p. 213-231, 1958.

EDWARDS, L.B., PALMER, C.E. Isolation of atypical mycobacteria from healthy persons. **Am Rev Resp Dis.** v. 80, p. 747-749, 1959.

ELNER, J.J., GOLDBERGER, M.J., PARENTI, D.M. *Mycobacetrium avium* infection and AIDS: a therapeutic dilemma in rapid evolution. **J Infect Dis.** v. 163, p. 1326-1335, 1991.

ESPÍRITO SANTO. Secretaria de Estado da Saúde. **Assessoria de Comunicação:** Estabelecimentos Envolvidos no Surto de Micobactéria de crescimento rápido. Vitória, 2008. Disponível em: <<http://www.es.gov.br/Governo/Secretarias/22/sesa--secretaria-de-estado-da-saude.htm>>. Acesso em: 28 out. 2010.

EUZÉBY, J. P. **List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature.** Disponível em: <<http://www.bacterio.cict.fr/m/mycobacterium.htm>>. Acesso em: 11 June 10.

EVANS, A.J., CRISP, A.J., HUBBARD, R.B., COLVILLE, A., EVANS, S.A., JOHNSTON, I.D.A. Pulmonary *Mycobacterium kansasii* infection: comparison of radiological appearances with pulmonary tuberculosis. **Thorax.** v. 51, 1243–1247, 1996.

FALKINHAM III, J. O. Nontuberculous mycobacteria in the environment. **Clin. Chest Med.**, v. 23, p. 529-551, 2002.

FALKINHAM III, J. O. Surrounded by mycobacteria: nontuberculous mycobacteria in the human environment. **J. Appl. Microbiol.**, v. 107, p. 356-367, 2009.

FALKINHAM III, J. O.; NORTON, C. D.; LE CHEVALLIER, M.W. Factors influencing numbers of *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare* and other mycobacteria in drinking water distribution systems. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 67, p. 1225-1231, 2001.

FALKINHAM III, J. O.; PARKER, B. C.; GRUFT, H. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. I. Geographic distribution in the eastern United States. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 121, p. 931-937, 1980.

FALKINHAM III, J.O. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. **Clin Microbiol Rev.** v.9, p. 177-215, 1996.

FANDINHO, F.C.O.; GRINSZTEJN, B.; SANTOS, V.G.V.; LOURENÇO, M.C.S.; WERNWCK-BARROSO, E. B. J.; NOGUEIRA, A. S.; FONSECA, L. S. Diagnosis of disseminated mycobacterial infection: proposal of simple and non-expensive method to be used in developing countries. **Bull. WHO**, v. 75, n. 4, p. 361-366, 1997.

FERRAZOLI, L.; SILVA, E. A. M.; ICHIKAWA, T. P. M. Micobactérias outras que não o *Mycobacterium tuberculosis*: análise da ocorrência e de aspectos relevantes da infecção. **Hansen. Int.**, v. 17, n. 1/2, p. 15-20, 1992.

FERREIRA, R. M. C.; SAAD, M. H. F.; SILVA, M. G.; FONSECA, L. S. Non-tuberculous Mycobacteria I: One year clinical isolates identification in tertiary hospital Aids reference center, Rio de Janeiro, Brazil, in pre highly active antiretroviral therapy era. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 5, p. 725-729, 2002.

FERREIRA, R.M.C.; SILVA, M.G.; FONSECA, L.S. Micobactérias atípicas em espécimes clínicos de hospital de referência para AIDS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 19., 1997, Rio de Janeiro. **Anais...**Rio de Janeiro, 1997.

FIELD, S. K.; COWIE, R. L. Lung disease due to the more common Nontuberculous Mycobacteria. **Chest**, v. 129, n. 6, p. 1653-1672, 2006.

FONSECA, L.S.; GONTIJO, F.P.P. Micobactérias atípicas isoladas no Rio de Janeiro. I – Identificação preliminar pela morfologia colonial. **Rev Microbiol.** v. 9, p. 125-130, 1978.

FRANÇA, F.O.S., AMATO, N.V. Informações sobre AIDS: Tratamento das micobacterioses não-tuberculosas na síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). **J Bras Med.** v. 68, p.120-122, 1995.

FREEMAN, J., MORRIS, A., BLACKMORE, T. Incidence of nontuberculous mycobacterial disease in New Zealand. **N Z Med.** v. 120, p. U2580, 2008.

FREITAS, D., ALVARENGA, L., SAMPAIO, J., MANNIS, M., SATO E SOUSA, L., VIEIRA, L., YU, M.C., MARTINS, M.C., HOFLING-LIMA, A., BELFORT, R. JR. An outbreak of *Mycobacterium chelonae* infection after LASIK. **Ophthalmology** v. 110, p. 276-285, 2003.

FU, L. M.; FU-LIU, C. S. Is *Mycobacterial tuberculosis* a closer relative to Gram-positive or Gram-negative bacterial pathogens? **Tuberculosis**, v. 82, n. 2/3), p. 85-90, 2002.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (Brasil). **Tuberculose: guia de vigilância epidemiológica para tuberculose e outras micobactérias.** Brasília, 2002. **Onde tem (BRASIL, 2002c) colocar (FUNDAÇÃO..., 2002)**

GALDUROZ, J.C.F.; CAETANO, R. Epidemiologia do uso de álcool no Brasil. **Rev. Bras. Psicol.**, v. 26, n. 1, p.S3-S6, 2004.

GARCIA, M.H.O. **Investigação de surto de infecção hospitalar associado à micobactérias de crescimento rápido.** Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, 2007.

GENTRY, C. A. Atypical mycobacteria. In: SCHUMOCKV, G. T.; BRUNDAGE, D.; CHESSMAN, K.; DUNSWORTH, T.; FAGAN, S.; KELLY, W.; RATHBUM, R.; RICHIE, D.; SEMLA, T.; VASQUEZ, E.; ZAROWITZ, B. **Pharmacotherapy Self-Assessment Program – Infectious Diseases II.** 5. ed. Kansas City: American College of Clinical Pharmacy, 2005.

GERACI, J. E., ANDERSON, M. W., KARLSON, A. G. Endocarditis due to a rapidly growing chromogenic *mycobacterium*. **Mayo Clin. Proc.** v. 43, p. 124-133, 1968.

GIAMPAGLIA, C.M.S.; MARTINS, M.C.; CHIMARA, E.; OLIVEIRA, R.S.; DE OLIVEIRA, V. G. B.; MARSICO, A. G.; MELLO, F. C. Q.; DE SOUZA, F. L.; KRITSKI, A.; DA SILVA, T. M. A. Differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* from other mycobacteria with p-nitrobenzoic acid using MGIT960. **T Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 11, n. 7, p. 803-807, 2007.

GILKS, C.F., BRINDLE, R.J., MWACHRI, C., BATCHELOR, B., BWAYO, J., KIMARI, J., ARBEIT, R.D., VON REYN, C.F. Disseminated *Mycobacterium avium* infection among HIV-infected patients in Kenya. **J Acquired Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.** v. 8, p. 195-198, 1995.

GONZALEZ, R., HANNA, B.A. Evaluation of Gen-Probe DNA hybridization systems for the identification of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium-intracellulare*. **Diagn Microbiol Infect Dis.** v. 8, p. 69-77, 1987.

GOOD, R.C. AND SNIDER, D.E. Isolation of nontuberculous mycobacteria in the United States. **J Infect Dis.** v. 99, p. 1-132, 1982.

GRANATO, P. A. Pathogenic and indigenous microorganismos of humans. In: MURRAY, P. R. (Ed.). **Manual of clinical microbiology**. Washington, DC: American Society for Microbiology, 2003. p. 44-54.

GRIFFITH, D.E. Therapy of nontuberculous mycobacterial disease. **Clin Infect Dis.** v. 20, p. 198-203, 2007.

GRIFFITH, D.E., GIRARD, W.M., WALLACE, R.J. JR. Clinical features of pulmonary disease caused by rapidly growing mycobacteria: an analysis of 154 patients. **Am Rev Respir Dis.** v. 147, p. 1271, 1993.

GUPTA, S.K., CHUGH, T.D., SHEIKH, Z.A., AL-RUBAH, N.A. Cytodiagnosis of GUTHERTZ, L.S., DAMSKER, B., BOTTONI, E.J., FORD, E.G., MIDURA, T.F., JANDA, J.M. *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* in patients with and without AIDS. **J Infect Dis.** v. 160, p. 1037-1041, 1989.

HADAD, D. J.; PALHARES, M.C.A.; PLACCO, A.L.N.; DOMINGUES, C.S.B.; CASTELO, A.F.; FERRAZOLI, L.; UEKI, S.Y.M.; TELLES, M.A.S.; MARTINS, M.C.; PALACI, M. *Mycobacterium avium* complex (MAC) isolated from aids patients and the criteria required for its implication in disease. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 37, n. 50, p. 375-383, 1995.

HALL, L., DOERR, K.A., WOHLFIEL, S.L., ROBERTS, G.D. Evaluation of the Micro-Seq system for identification of mycobacteria by 16S ribosomal DNA sequencing and its integration into a routine clinical mycobacteriology laboratory. **J Clin Microbiol** v. 41, p. 1447-1453, 2003.

HENRIQUES, B., HOFFNER, S.E., PETRINI, B., JUHLIN, P., WAHLÉN, P., KÄLLENIUS, G. Infection with *Mycobacterium malmoense* in Sweden: report of 221 cases. **Clin infect Dis.** v. 18, p. 596-600, 1994.

HENRY, M.T., INAMDAR, I., O'RIORDAIN, D., SCHWEIGER, M., WATSON, J.P. Nontuberculous mycobacteria in non-HIV patients: epidemiology, treatment and response. **Eur Respir J.** v. 23, p. 741-746, 2004.

HOCQUELOUX, L., LESPRIT, P., HERRMANN, J.L., LA BLANCHARDIERE, A., ZAGDANSKI, A.M., DECAZES, J.M., MODAI, J. Pulmonary *Mycobacterium avium* complex disease without dissemination in HIV-infected patients. **Chest** v. 113, p. 542-548, 1998.



HOEFSLOOT, W.; BOEREE, M.J.; VAN INGEN, J.; BENDIEN, S.; MAGIS, C.; LANGE, W.; DEKHUIJZEN, P.N.R.; VAN SOOLINGEN, D. The rising incidence and clinical relevance of *Mycobacterium malmoense*: a review of the literature. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.** v. 12, n. 9, p. 987-993, 2008.

HOFFMAN, P.C., FRASER, D.W., ROHICSEK, F., O'BAR, P.R., MAUNEY, C.U. Two outbreaks of external wound infections due to organisms of the *Mycobacterium fortuitum* complex. **J Infect Dis** v.143, p. 533-542, 1981.

HORNICK, D.B., DAYTON, C.S., BEDELL, G.N., FICK, R.B. JR. Nontuberculous mycobacterial lung disease. Substantiation of a less aggressive approach. **Chest.** v. 93, p. 550-555, 1988.

HORSBURG JUNIOR, C.J.; SELIK, R.M. The epidemiology of disseminated nontuberculous mycobacterial infection in the acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 139, p. 14-17, 1989.

HORSBURGH JUNIOR, C. R. Epidemiology of *Mycobacterium avium* complex. In: KORVICK, J. A.; BENSON, C. A. (Ed.). **Mycobacterium avium complex: progress in research and treatment.** New York: Marcel Dekker, 1996. p. 1-22.

HORSBURGH JUNIOR, C. R. Epidemiology of disease caused by nontuberculous complex. **Chest**, v. 99, p. 667-669, 1991.

HORSBURGH JUNIOR, C. R. Epidemiology of disease caused by nontuberculous mycobacteria. **Semin. Respir. Infect.**, v. 11, n. 4, p. 244-251, Dec. 1996.

HORSBURGH JUNIOR, C.R. *Mycobacterium avium* complex infection in the acquired immunodeficiency syndrome. **N. Engl. J. Med.**, v. 324, p. 1332-1338, 1991.

HORSBURGH JUNIOR, C.R.; GETTINGS, J.; ALEXANDER, L.N.; LENNOX, J. L. Disseminated *Mycobacterium avium*-complex disease among patients infected with human immunodeficiency virus, 1985-2000. **Clin. Infect. Dis.**, v. 33, p. 1938-1943, 2001.

HORSBURGH JUNIOR, C.R.; MASON, U.G.; FARHI, D.C.; ISEMAN, M.D. Disseminated infection with *Mycobacterium avium-intracellulare*. **Medicine**, v. 64, p. 36-48, 1985.

HUANG, J. H., KAO, P. N., ADI, V., RUOSS, S. J. *Mycobacterium avium-intracellulare* pulmonary infection in HIV-negative patients without preexisting lung disease – diagnostic and management limitations. **Chest.** v. 115, p. 1033-1040, 1999.

INDEBOOM, J.A., PRINS, J.M., VAN COPPENRAET B.E.S., LINDEBOOM, R., KUIJPER, E.J. Cervicofacial lymphadenitis in children caused by *Mycobacterium haemophilum*. **Clin Infect Dis** v. 41, p. 1569-1575, 2005.

INSTITUT DSMZ. **Bacterial Nomenclature Up to Date**. Disponível em: <<http://www.dsmz.de/bactnom/bactname.htm>>. Acesso em: 6 Dec. 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Resultados Gerais da amostra do Censo 2010**. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\\_visualiza.php?id\\_noticia=2125&id\\_pagina=1](http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=2125&id_pagina=1)>. Acesso em: 02 maio 2012.

ISEMAN, M.D. *Mycobacterium avium* complex and the normal host: the other side of the coin. **N Engl J Med**. v. 321, p. 896-898, 1989.

ISEMAN, M.D., CORPE, R.F., O'BRIEN, R.J., ROSENZWIEG, D.Y., WOLINSKY, E. Disease due to *Mycobacterium avium-intracellulare*. **Chest**. v. 87, p. 139S-149S, 1985.

ISEMAN, M.D.; BUSCHMAN, D.L.; ACKERSON, L.M. Pectus excavatum and scoliosis: thoracic anomalies associated with pulmonary disease caused by *Mycobacterium avium* complex. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 144, n. 4, p. 914-916, 1991.

JARZEMBOWSKI, J.A., YOUNG, M.B. Nontuberculous Mycobacterial infections. **Arch Pathol Lab Med**. v. 132, p. 133-1341, 2008.

JOST, K.C., DUNBAR, D.F., BARTH, S.S., HEADLEY, V.L., ELLIOTT, L.B. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* complex directly from smear-positive sputum specimens and BACTEC 12B cultures by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection and computer-driven pattern recognition models. **J Clin Microbiol**. v. 33, p. 1270–1277, 1995.

KALAYJIAN, R.C., TOOSI, Z., TOMASHEFSKI, J.F. JR., CAREY, J.T., ROSS, J.A., TOMFORD, J.W., BLINKHORN, R.J. JR. Pulmonary disease due to infection by *Mycobacterium avium* complex in patients with AIDS. **Clin Infect Dis**. v. 20, p. 1186–1194, 1995.

KASAI, H., EZAKI, T., HARAYAMA, S. Differentiation of phylogenetically related slowly growing mycobacteria by their *gyrB* sequences. **J Clin Microbiol**. v. 38, p. 301-308, 2000.

KATILA, M. L.; BRANDER, E.; BACKMAN, A. Neonatal BCG vaccination and mycobacterial cervical adenitis in childhood. **Tubercle**, v. 68, p. 291-296, 1987.

KATOCH, V.M. Infections due to non-tuberculous mycobacteria (NTM). **Indian J Med Res**. v. 120, p. 290-304, 2004.

KEANE, J. Tumor necrosis factor blockers and reactivation of latent tuberculosis. **Clin Infect Dis**. v. 39, p. 300–302, 2004.

KEANE, J., GERSHON, S., WISE, R. P., MIRABILE-LEVENS, E., KASZNICA, J., SCHWIETERMAN, W. D. SIEGEL, J. N., BRAUN, M. M. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. **N Engl J Med.** v. 345, p. 1098-1104, 2001.

KENDALL, B. A.; VARLEY, C. D.; CHOI, D.; CASSIDY, P. M.; HEDBERG, K.; WARE, M.A.; WINTHROP, K. L. Distinguish tuberculosis from Nontuberculous mycobacteria Lung Disease, Oregon USA. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 17, n. 1, p. 506-509, 2011.

KENNEDY, M.P., O'CONNOR, T.M., RYAN, C., SHEEHAN, S., CRYAN, B., BREDIN, C. Nontuberculous mycobacteria: incidence in Southwest Ireland from 1987 to 2000. **Respir Med.** v. 97, p. 257-263, 2003.

KENNEDY, T.P., WEBER, D.J. Nontuberculous mycobacteria: na underappreciated cause of geriatric lung disease. **Am J Respir Crit Care Med.** v. 149, p. 1654-1658, 1994.

KEVORKOFF, G., MICHELI, Z., NIGRO, D.R. Tratamiento de micobateriosis no tuberculosas (MNT) con quinilonas. **Rev Fac Cienc Méd.** v. 51, p. 9-14, 1993.

KIM, B.J., LEE, S.H., LYU, M.A., KIM, S.J., BAI, G.H., CHAE, G.T., KIM, E.C., CHA, C.Y., KOOK, Y.H. Identification of Mycobacterial species by comparative sequence analysis of the RNA polymerase Gene (*rpoB*). **J Clin Microbiol.** v. 37, p. 1714-1720, 1999.

KIM, B.J., TANAKA, N., NEWELL, J.D., DEGROOTE, M.A., FULTON, K., HUITT, G., LYNCH, D.A. Nontuberculous mycobacterial infection: CT scan findings, genotype and treatment responsiveness. **Chest** v. 128, p. 3863-3869, 2005.

KIM, R.D., GREENBER, D.E., EHRMANTRAUT, M.E., GUIDE, S.V., DING, L., SHEA, Y., BROWN, M.R., CHERNICK, M., STEAGALL, W.K., GLASGOW, C.G., LIN, J., JOLLEY, C., SORBARA, L., RAFFELD, M., HILL, S., AVILA, N., SACHDEV, V., BARNHART, L.A., ANDERSON, V.L., CLAYPOOL, R., HILLIGOSS, D.M., GAROFALO, M., FITZGERALD, A., ANAYA-O'BRIEN, S., DARNELL, D., DE CASTRO, R., MENNING, M., RICKLEFS, S.M., PORCELLA, S.F., OLIVIER, K.N., MOSS, J., HOLLAND, S.M. Pulmonary nontuberculous mycobacterial disease: prospective study of a distinct preexisting syndrome. **Am J Respir Crit Care.** v. 178, p. 1066-1074, 2008.

KOCH, R. The aetiology of tuberculosis (English translation). In CLENDENING L. **Source Book of Medical history.** New York: Dover publications, p. 392-406, 1932.

KOH, W.J., KWON, O.J., LEE, K.S. Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Diseases in Immunocompetent Patients. **Korean J Radiol.** v. 3, p. 145-157, 2002.

KRITSKI, A.L., DALCOMO, M.P., DEL BIANCO, R., MELLO, F.F., PINTO, W.P., SCHECHTER, M., CASTELO, A. Associação tuberculose e infecção pelo HIV no Brasil. **Bol of Sanit Panam.** v. 118, p. 542-554, 1995.

KRITSKI, A.L., LAPA E SILVA, JR., CONDE, M.B. Tuberculosis and HIV: Renewed challenge. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** v. 93, p. 417-421, 1998.

KUBICA, G. P. Differential identification of mycobacteria. VII \_ key features for identification of clinically significant mycobacteria. **Am. Rev. Respir. Dis.,** v. 107, n. 1, p. 9-21, 1973.

LASKOWSKI, L. F., JOSEPH M. J., SPERNOGA, J.F., FRANK, N. J., HENDRICK, B., BARNER, H. B., KAISER, G., TYRAS, D.H. Fastidious Mycobacteria Grown from Porcine Prosthetic-Heart-Valve Cultures. **N Engl J Med.** v. 297, p. 101-102, 1977.

LEÃO, S. C.; MARTÍN, A.; MEJIA, G.I.; PALOMINO, J.C.; ROBLEDO, J.; TELLES, M.A.S.; PORTAELS, F. **Practical handbook for phenotypic and genotypic identification of mycobacteria.** 2004. Disponível em: <<http://www.esmycobacteriology.eu/PDF%20files/foreword.pdf> >. Acesso em: 06 Dec. 2012.

LEWIS JUNIOR, A. G.; LASCHÉ, E. M.; ARMSTRONG, A. L.; DUNBAR, F. P. A clinical study of the chronic lung disease due to nonphotochromogenic acid-bacilli. **Ann. Intern. Med.,** v. 53, n. 2, p. 273-285, 1960.

LEWIS, F.M., MARSH, B.J., VON REYN, C.F. Fish tank exposure and cutaneous infections due to *Mycobacterium marinum*: tuberculin skin testing, treatment, and prevention. **Clin Infect Dis** v. 37, p. 390–397, 2003.

LINCOLN, E.M., GILBERT, L.A. Disease in children due to mycobacteria other than *Mycobacterium tuberculosis*. **Am Rev Respir Dis** v. 105, p. 683-714, 1972.

LOPES, A.J., CAPONE, D., MOGAMI, R., TESSAROLO, B., CUNHA, D.I., CAPONE, R.B., SIQUEIRA, H.R., JANSEN, J.M. Tuberculose extrapulmonar: aspectos clínicos e de imagem. **Pulmão.** v. 15, p. 252-261, 2006.

LOPES, M.I., LIMA, K.V.B., LEÃO, S.C., SOUSA, M.S., SANTI, L.Q., LOUREIRO, E.C.B. Micobactérias associadas a procedimentos médicos invasivos em Belém (nota prévia). **Rev Para Med.** v. 19, p. 87-89, 2005.

LOWRY, P.W., JARVIS, W.R., OBERLE, A.D., BLAND, L.A., SILBERMAN, R., BOCCHINI, J.A. JR., DEAN, H.D., SWENSON, J.M., WALLACE, R.J. JR. *Mycobacterium chelonae* causing otitis media in an ear-nose-and-throat practice. **N Engl J Med** v. 319, p. 978–982, 1988.

MACEDO, J. L. S.; HENRIQUES, C. M. P. Infecções pós-operatórias por micobactérias de crescimento rápido no Brasil. **Rev. Bras. Cir. Plast.**, v. 24, n. 4, p. 544-551, 2009.

MAIA, D.L.M., SOUZA, L.R.C. Identificação e determinação da susceptibilidade a drogas de micobactérias isoladas de pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida atendidos em hospital de referência para AIDS em Goiás, Brasil. **Rev Patol Trop.** v. 29, p. 181-196, 2000.

MARTINEZ-MORAGÓN, E., MENÉNDEZ, R., PALASÍ, P., SANTOS, M., ALDEGUER, J.L. Enfermedades por micobacterias ambientales en pacientes con y sin infección por el VIH: características epidemiológicas, clínicas y curso evolutivo. **Arch Bronconeumol**, v. 37, p. 281-286, 2001.

MATOS, E.D., SANTANA, M.A., SANTANA, M.C., MAMEDE, P., BEZERRA, B.L., PANÃO, E.D., SCHITINI FILHO, C.S., LEMOS, A.C.M. Nontuberculosis mycobacteria at a multiresistant tuberculosis reference center in Bahia: clinical epidemiological aspects. **Braz J Infect Dis.** v. 8, p. 296-304, 2004.

MCNABB, A.D., EISLER, K., ADLIE, M., AMOS, M., RODRIGUES, G., STEPHENS, W.A., BLACK, I., RENTON, J. Assessment of partial sequencing of the 65-kilodalton heat shock protein gene (hsp65) for routine identification of mycobacterium species isolated from clinical sources. **J Clin Microbiol.** v. 42, p. 3000–3011, 2004.

MELLO, F. Q. C.; KRITSKI, A. L. Micobactérias não tuberculosas. In: CONDE, M. B.; MUZY DE SOUZA, G. R. **Pneumologia e Tisiologia: uma abordagem prática.** Rio de Janeiro: Atheneu, 2009. p. 639.

MELLO, F.C.Q. Micobactérias não tuberculosas. In: CONDE, M. C.; FITERMAN, J.; LIMA, M. **Tuberculose.** Rio de Janeiro: Ed. Gen, 2010. p 225-230, 2010.

MOKADDAS, E., AHMAD, S. Development and evaluation of a multiplex PCR for rapid detection and differentiation of *M. tuberculosis* complex members from non-tuberculous micobactéria. **J. Infect. Dis.** v. 60, p. 140-144, 2007.

MOORE, E.H. Atypical mycobacterial infection in the lung: CT appearance. **Radiology.** v. 187, p. 777-778, 1993.

MOORE, J.S., CHRISTENSEN, M., WILSON, R.W., WALLACE, R.J. JR., ZHANG, Y., NASH, D.R., SHELTON, B. Mycobacterial contamination of metalworking fluids: involvement of a possible new taxonomy of rapidly growing mycobacteria. **AIHAJ** v. 61, p. 205–213, 2000.

MOTA, W.T. **Bioquímica clínica: métodos e interpretação.** Porto Alegre, RS: Missau, 1989.

MURCIA, M.I.; LEÃO, S.C.; RITACCO, V.; PALENQUE, E.; OLIVEIRA, R.S.; RANIERO, A.; MENENDEZ, M.C.; TELLES, M.A.; HADAD, D.J.; BARREIRA, L.; GARCÍA, M.J. Distribution of PRA patterns of clinical isolates of the *Mycobacterium avium* complex from Spain and South America. **Biomedica**, v. 24, n. 1, p. S60-S64, 2004.

MUSIAL, C., TICE, L., STOCKMAN, L., ROBERTS, G. Identification of mycobacteria from culture by using the Gen-Probe rapid diagnostic system for *Mycobacterium avium* complex and *Mycobacterium tuberculosis* complex. **J. Clin. Microbiol.** v. 26, p. 2120-2123, 1988.

NELSON, S.M.; DEIKE, M.A.; CARTWRIGHT, C.P. Value of Examining Multiple Sputum Specimens in the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, n. 2, p. 467-469, 1998.

NEWMAN, M.I.; CAMBEROS, A.E.; ASCHERMAN, J. *Mycobacterium abscessus* outbreak in US patients linked to offshore surgicenter. **Ann. Plast. Surg.**, v. 55, n. 1, p. 107-110, 2005.

NIGHTINGALE, S.D., BYRD, L.T., SOUTHERN, P.M., JOCKUSCH, J.D., CAL, S.X., WYNNE, B.A. Incidence of *Mycobacterium avium-intracellulare* complex in human immunodeficiency virus-positive patients. **J Infect Dis.** v. 165, p. 1082-1085, 1992.

O'BRIEN, R.J., GEITER, L.J., SNIDER, D.E. The Epidemiology of nontuberculous mycobacterial diseases in the United States: Results from a national survey. **Am Rev Respir Dis.** v. 135, p. 1007-1014, 1987.

OLIVER, A., MAIZ, L., CANTON, R., ESCOBAR, H., BAQUERO, F., GOMÉZ-MAMPASO, H. Nontuberculous mycobacteria in patients with cystic fibrosis. **Clin Infect Dis.** v. 32, p. 1298-1303, 2001.

OLIVIER, K.N., WEBER, D.J., WALLACE, R.J. JR., FAIZ, A.R., LEE, J.H., ZHANG, Y., BROWN-ELLIOT, B.A., HANDLER, A., WILSON, R.W., SCHECHTER, M.S., EDWARDS, L.J., CHAKRABORTI, S., KNOWLES, M.R. Nontuberculous Mycobacteria. I: multicenter Prevalence Study in Cystic Fibrosis. **Am J Respir Crit Care Med.** v. 167, p. 828-834, 2003.

PADOVEZE, M.C.; FORTALEZA, C.M.C.B.; FREIRE, M.P.; BRANDÃO DE ASSIS, D.; MADALOSSO, G.; PELLINI, A.C.G.; CÉSAR, M.L.V.; PISANI NETO, V.; BELTRAMELLI, M.M.; CHIMARA, E. Outbreak of surgical infection caused by non-tuberculous mycobacteria in breast implants in Brazil. **J. Hosp. Infect.**, v. 67, n. 2, p. 161-167, 2007.

PALHANO, J.R.J.; ANDRADE, L.M.; FONSECA, L.S. *Mycobacterium fortuitum* – Avaliação bacteriológica de amostras isoladas no Rio de Janeiro. **J. Pneumol.** v. 12, p. 170-174, 1986.

PARK, H., JANG, H., KIM, C., CHUNG, B., CHANG, C.L., PARK, S.K., SONG, S. Detection and identification of mycobacteria by amplification of the internal transcribed spacer regions with genus- and species-specific PCR primes. **J Clin Microbiol.** v. 38, p. 4080-4085, 2000.

PARKER, B.C., FORD, M.A., GRUFT, H., FALKINHAM, J.O. III. \_ Epidemiology of infection by non tuberculous mycobacteria. IV. Preferential aerosolization of *Mycobacterium intracellulare* from natural waters. **Am Rev Resp Dis.** v. 128, p. 652-656, 1983.

PATEL, J.B., LEONARD, D.G.B., PAN, X., MUSSER, M., BERMAN, R.E., NACHAMKIN, I. Sequence-based identification of *Mycobacterium* species using the MicroSeq 50016S rDNA bacterial identification system. **J Clin Microbiol.** v. 38, p. 246–251, 2000.

PEDRO, H.S.P., PEREIRA, M.I.F., GOLONI, M.R.A. UEKI, S.Y.M., CHIMARA, E. Isolamento de Micobactérias não Tuberculosas em São José do Rio Preto entre 1996 e 2005. **J Bras Pneumol.** v. 34, p. 950-954, 2008.

PFYFFER, G.E.; BROWN-ELLIOTT, B.A.; WALLACE JUNIOR, R. J. *Mycobacterium*: general characteristics, isolation and straining procedures. In: MURRAY, P. R.; BARON, E.J.; JORGENSEN, J. H.; PFALLER, M. A.; YOKEN, R. H. **Manual of clinical microbiology.** 8<sup>th</sup> ed. Washington, DC: ASM Press, 2003. p. 532–559.

PRIMM, T.P., LUCERO, C.A., FALKINHAM, J.O. Healthy impacts of environmental mycobacteria. **Clin Microbiol Rev.** v. 17, p. 98-106, 2004.

PRINCE, D.S., PETERSON, D.D., STEINER, R.M., GOTTLIEB, J.E., SCOTT, R., ISRAEL, H.L., FIGUEROA, W.G., FISH, J.E. Infection with *Mycobacterium avium* complex in patients without predisposing conditions. **N Engl J Med.** v. 321, p. 863-868, 1989.

QUEIPO, J.A., BROSETA, E., SANTOS, M., SANCHEZ-PLUMED, J., BUDIA, A., JIMENEZ-CRUZ, F. Mycobacterial infection in a series of 1261 renal transplant recipients. **Clin Microbiol Infect** v. 9, p. 518–525, 2003.

QUNIBI, W. Y.; AL-SIBAI, M. B.; TAHER, S.; HARDER, E. J.; DE VOL, E.; AL-FURAYH, O.; GINN, H. E. Mycobacterial infection after renal transplantation--report of 14 cases and review of the literature. **Q. J. Med.**, v. 77, n. 282, p. 1039-1060, 1990.

R DEVELOPMENT CORE TEAM R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 03 May 2011.

RAJU, B., SCHULUGER, N.W. Significance of respiratory isolates of *Mycobacterium avium* complex in HIV-positive and negative patients. **J. Infect Dis.** v. 4, p. 134-139, 2000.

RASTOGI, N.; LEGRAND, E.; SOLA, C. The mycobacteria: an introduction to nomenclature and pathogenesis. **Rev. Sci. Tech. Int. Epiz.**, v. 20, n. 1, p. 21-54, 2001.

REICH, J.M., JOHNSON, R.E. *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease presenting as an isolated lingular or middle lobe pattern: the Lady Windermere syndrome. **Chest.** v. 101, p. 1605-1609, 1992.

REISNER, B.S., GATSON, A.M., WOODS, G.L. Use of Gen-Probe AccuProbe to identify *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium tuberculosis* complex, *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium gordonae* directly from BACTEC TB broth cultures. **J Clin Microbiol.** v. 32, p. 2995-2998, 1994.

REPATH, F., SEABURY, H.H., SANDERS, C.V., DOMER, J. Prosthetic valve endocarditis due to *Mycobacterium chelonae*. **Southern Med. J.** v. 69, p. 1244, 1976.

REZNIKOV, M., LEGGO, J.H., DAWSON, D.J. Investigation by seroagglutination of strains of *Mycobacterium intracellulare*-*M.scrofulaceum* group from house dusts to sputum in southeastern Queensland. **Am Rev Respir Dis.** v. 104, p. 951-953, 1974.

RINGUET, H., AKOUA-KOFFI, C., HONORE, S., VARNEROT, A., VINCENT, V., BERCHIE, P., GAILLARD, J.L., PIERRE-AUDIER, C. *hsp65* sequencing for identification of rapidly growing mycobacteria. **J Clin Microbiol.** v. 37, p. 852-857, 1999.

RODRIGUES-BARRADAS, M.C., CLARIDE, J., DAROUICHE, R. Disseminated *Mycobacterium fortuitum* disease in an AIDS patient. **Am J Med.** v. 93, p. 473-474, 1992.

ROGALL, T.; FLOHR, T.; BOTTGER, E.C. Differentiation of *Mycobacterium* species by direct sequencing of amplified DNA. **J. Gen. Microbiol.**, v. 136, Pt. 9, p. 1915-1920, 1990.

ROMANUS, V., HALLANDER, H.H., WAHLEN, P., OLINDER-NIELSEN, A.M., MAGNUSSON, P.H.W., JUHLIN, I. Atypical mycobacteria in extrapulmonary disease among children: incidence in Sweden from 1969 to 1990, related to changing BCG-vaccination coverage. **Tuber Lung Dis** v.76, p. 300-310, 1995.

ROSEMBERG, J.; TARANTINO, A. B. Tuberculose. In: TARANTINO, A. B. **Doenças pulmonares.** 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 294-380.



ROTH, A., REISCHHEL, U., STREUBEL, A. NAUMANN, L., KROPPESTEDT, R.M., HABICHT, M., FISHER, M., MAUCH, H. Novel diagnostic algorithm for identification of mycobacteria using genus-specific amplification of the 16S-23S rRNA gene spacer and restriction endonuclease. **J Clin Microbiol.** v. 38, p. 1094-1104, 2000.

ROY, V., WEISDORF, D. Mycobacterial infections following bone marrow transplantation: a 20 year retrospective review. **Bone Marrow Transplant.** v. 19, p. 467-470, 1997.

RUNYON, E. H.; WAINE, L.G.; KUBICA, G.P. Mycobacteriaceae. In: BURHANAN, R. E.; GIBBONS, N. E. (Ed.). **Bergey's: manual of determinative bacteriology.** 8th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1974.

RUNYON, E.H. Ten mycobacterial pathogens. **Tubercle.** v. 55, p. 235-240, 1974.

SAAD, M.H.F., VINCENT, V., DAWSON, D., PALACI, M., FERRAZOLI, L., FONSECA, L.S. Analysis of *Mycobacterium avium* complex serovars isolated from AIDS patients from Southeast Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** v. 92, p. 471-475, 1997.

SAFDAR, A., ARMSTRONG, D., MURRAY, H.W. A novel defect in interferon-gamma secretion in patients with refractory nontuberculous pulmonary mycobacteriosis. **Ann. Intern. Med.** v. 138, p. 521, 2003.

SANDERS, J.W., WALSH, A.D., SNIDER, R.L., SAHN, E.E. Disseminated *Mycobacterium scrofulaceum* infection: a potentially treatable complication of AIDS. **Clin Infect Dis.** v. 20, p. 549-556, 1995.

SANGUINETTI, M., ARDITO, F., FISCARELLI, E., LA SORDA, M., D'ARGENIO P., RICCIOTTI, G., FADDA, G. Fatal pulmonary infection due to multidrug-resistant *Mycobacterium abscessus* in a patient with cystic fibrosis. **J Clin Microbiol** v. 39, p. 816–819, 2001.

SÃO PAULO. Secretaria Estadual de Saúde. **Micobacterioses: recomendações para o diagnóstico e tratamento.** São Paulo, 2005.

SEISCENTO, M.; BOMBARDA, S.; CARVALHO, A.C.; CAMPOS, J.R.M.; TEIXEIRA, L. Derrame pleural por micobactéria não tuberculosa. **J. Bras. Pneumol.**, v. 31, n. 5, p. 459-463, 2005.

SHIMIZU, M.T., SILVA, E.A.M., JORGE, A.O.C., ALMEIDA, N.Q. Micobactérias isoladas de urinas de pacientes com suspeita de tuberculose urinária. **Rev Cienc Farm.** v. 8/9, p. 167-171, 1987.

SILVA, E.A.M., MIRANDA, J.B.N., FERRAZOLI, L., FUZIHARA, T.O., PALACI, M. Ocorrência de infecções por *M. kansasii* em São Paulo - Brasil. **Rev Int Adolfo Lutz.** v. 47, p. 1. 1987.

SILVA, F.C.S., UEKI, S.Y.M., GEIGER, D.C.P., LEÃO, S.C. *Hsp65* PCR-restriction enzyme analysis (PRA) for identification of mycobacteria in the clinical laboratory. **Rev Inst Med Trop São Paulo**. v. 43, p. 25-28, 2001.

SPRINGER, B., STOCKMAN, L., TESCHNER, K., ROBERTS, G.D., BÖOTGER, E.C. Two laboratory collaborative study on identification of mycobacteria: molecular versus phenotypic methods. **J Clin Microbiol**. v. 34, p. 29, 1996.

STEINGRUBE, V.A., GIBSON, J.L., BROWN, B.A., ZHANG, Y., WILSON, R.W., RAJAGOPALAN, M., WALLACE, R.J. JR. PCR amplification and restriction endonuclease analysis of a 65-kilodalton heat shock protein gene sequence for taxonomic separation of rapidly growing mycobacteria. **J Clin Microbiol**. v. 33, p.149–153, 1995.

SZABO, I. *Mycobacterium chelonae* endemy after heart surgery with fatal consequences. **Am. Rev. Respir. Dis**. v. 121, p. 607, 1980.

TAKEWAKI, S.I., OKUZUMI, K., MANABE, I., TANIMURA, M., MIYAMURA, K., NAKAHARA, K., YAZAKI, Y., OHKUBO, A., NAGAI, R. Nucleotide sequence comparison of the mycobacteria *dnaJ* gene and PCR – restriction fragment length polymorphism analysis for identification of mycobacterial species. **Int Sys Bacteriol**. v. 44, p. 159-166, 1994.

TANAKA, E., AMITANI, R., MURAYAMA, T., SUZUKI, K., NIIMI, A., KUZE, F. Computed tomography diagnosis of *Mycobacterium avium* complex lung disease: Prospective study. **Am J Respir Crit care Med**. v. 151, p. A476, 1995.

TANAKA, E., AMITANI, R., NIIMI, A., SUZUKI, K., MURAYAMA, T., KUZE, F. Yield of computed tomography and bronchoscopy for the diagnosis of *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease. **Am J Respir Crit Care Med** v. 155, p. 2041–2046. 1997.

TANAKA, E., KIMOTO, T., MATSUMOTO, H., TSUYUGUCHI, K., SUZUKI, K., NAGAI, S., SHIMADZU, M., ISHIBATAKE, H., MURAYAMA, T., AMITANI, R. Familial pulmonary *Mycobacterium avium* complex disease. **Am J Respir Crit Care Med** v. 161, p. 1643–1647, 2000.

TELENTI, A., MARCHESI, F., BALZ, M., BALLY, F., BÖOTGER, E.C., BODMER, T. Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. **J Clin Microbiol**. v. 31, p. 175–178. 1993b.

TIMERMAN, A. Micobactérias Não-Tuberculosas e Doenças Associadas. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. (Ed.). **Veronesi: tratado de infectologia**. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 864.

TIMPE, A., AND RUNYON, E.H. The relationship of “atypical” acid-fast bacteria to human disease: a preliminary report. **J Lab Clin Med**. v. 44, p. 202, 1954.

TORTOLI, E. Impact of genotypic studies on mycobacterial taxonomy: the new mycobacteria of the 1990s. **Clin Microbiol Rev.** V.16, p. 319–354, 2003.

TORTOLI, E., CICHERO, P., CHIRILLO, M.G., GISMONDO, M.R., BONO, L., GESU, G., SIMONETTI, M.T., VOLPE, G., NARDI, & MARONE, P. Multicenter comparison of ESP culture system II with BACTEC 460TB and with Löwenstein-Jensen medium for recovery of mycobacteria from different clinical specimens, including blood. **J Clin Microbiol.** v. 36, p. 1378-1381, 1998.

TSUKAMURA, M. Diagnosis of disease caused by *Mycobacterium avium* tuberculosis lymphadenitis. **Acta Cytol** v. 37, p. 329–332, 1993.

UEKI, S.Y.M., MARTINS, M.C., TELLES, M.A.S., VIRGILIO, M.C., GIAMPAGLIA, C.M.S., CHIMARA, E., FERRAZOLI, L. Micobactérias não-tuberculosas: diversidade das espécies no estado de São Paulo. **J Bras Patol Med Lab.** v. 41, p. 1-8, 2004.

VAN SOOLINGER, D., VAN DER ZANDEN, A.G.M., DE HAAS, P.E.W., NOORDHOEK, G.T., KIERS, A., FOUORAINE, N.A., PORTAELS, F., KOLK, H.J., KREMER, K., VAN EMBDEN, J.D.A. Diagnosis of *Mycobacterium microti* infections among humans by using novel genetic markers. **J Clin microbial.** v. 36, p. 1840-1845, 1998.

VIANA-NIERO, C.; LIMA, K.V.B.; LOPES, M.L.; RABELLO, M.C.S.; MARSOLA, L.R.; BRILHANTE, V.C.R.; DURHAM, A.M.; LEÃO, S.C. Molecular characterization of *Mycobacterium massiliense* and *Mycobacterium bolletii* in isolates collected from outbreaks of infections after laparoscopic surgeries and cosmetic procedures. **J. Clin. Microbiol.**, v. 46, n. 3, p. 850-855, 2008.

VINCENT, V.; BROWN-ELLIOTT, B. A.; JOST, K. C.; WALLACE JUNIOR, R. J. *Mycobacterium*: Phenotypic and Genotypic Identification. In: Murray PR, (Ed.). **Manual of clinical microbiology.** 8<sup>th</sup> ed. Washington, DC: ASM press, 2003. p. 560–584.

VON REYN, C.F., ARBEIT, R.D., TOSTESON, A.N.A., RISTOLA, M.A., BARBER, T.W., WADDELL, R., SOX, C.H., BRINDLE, R.J., GILKS, C.F., RANKI, A., BARTHOLOMEU, C., EDWARDS, J., FALKINHAM, J.O. III., O'CONNOR, G.T. THE INTERNATIONAL MAC STUDY GROUP. The international epidemiology of disseminated *Mycobacterium avium* complex infection in AIDS. **AIDS.** v. 10, p. 1025-1032, 1996.

VON REYN, C.F., GREEN, P.A., MCCORMICK, D., HUITT, A., MARSH, B.J., MAGNUSSON, M., BARBER, T.W. Dual skin testing with *Mycobacterium avium* sensitin and purified protein derivate: an open study of patients with *M. avium* complex infection or tuberculosis. **Clin Infect Dis.** v. 19, p. 15-20, 1994.

VON REYN, C.F., MASLOW, J.N., BARBER, T.W., FALKINHAM, J.O. III., ARBEIT, R.D. Persistent colonization of portable water as a source of *Mycobacterium avium* infection in AIDS. **Lancet**. v.343, p. 1137-1141, 1994.

VON REYN, C.F., WADDELL, R.D., EATON, T., ARBEIT, R.D., MASLOW, J.N., BARBER, T.W., BRINDLE, R.J., GILKS, C.F., LUMIO, J., LAHDEVIRTA, J. Isolation of *Mycobacterium avium* complex from water in the United States, Finland, Zaire, and Kenya. **J Clin Microbiol**. v.1, p. 3227–3230, 1993.

VON REYN, C.F., WILLIAMS, D., HORSBURGH, C., JAEGER, AS., MARSH, B.J., HASLOV, K., MAGNUSSON, M. Dual skin testing with *Mycobacterium avium* sensitin and purified protein derivate to discriminate pulmonary disease due to *M. avium* complex from pulmonary disease due to *Mycobacterium tuberculosis*. **J Infect Dis**. v. 177, p. 730-736, 1998.

WALLACE JUNIOR, R. J. The clinical presentation, diagnosis, and therapy of cutaneous and pulmonary infections due to the rapidly growing mycobacteria *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae*. **Clin. Chest Med.**, v. 10, p. 419–429, 1989.

WALLACE JUNIOR, R. J.; GRIFFITH, D. E. Antimycobacterial agents. In: MANDELL, G. L.; BENNETT, J. E.; DOLIN, R. (Ed.). **Principles and practice of Infectious disease**. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005.cap. 36, p. 489-501.

WALLACE, R.J. JR., BROWN, B.A., ONYI, G.O. Skin, soft tissue, and bone infections due to *Mycobacterium chelonae* (*chelonae*): importance of prior corticosteroid therapy, frequency of disseminated infections, and resistance to oral antimicrobials other than clarithromycin. **J Infect Dis** v. 166, p. 405–412, 1982.

WALLACE, R.J. JR., COOK, J.L., GLASSROTH, J., GRIFFITH, D.E., OLIVIER, K.N., GORDIN, F. American Thoracic Society statement: diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. **Am J Respir Crit Care Med**. v. 156, p.S1–S25, 1997.

WALLACE, R.J. JR., NASH, D.R., TSUKAMURA, M., BLACKLOCK, Z.M., SILCOX, V.A. Human disease due to *Mycobacterium smegmatis*. **J Infect Dis** v. 158, p. 52–59, 1980.

WALLACE, R.J. JR., O'BRIEN, R., GLASSROTH, J., RALEIGH, J., DUTT, A. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. **Am J Respir Crit Care Med**. v. 142, p. 940-953, 1990.

WALLACE, R.J. JR., SWENSON, J.M., SILCOX, V.A., GOOD, R.C., TSCHEN, J.A., STONE, M.S. Spectrum of disease due to rapidly growing mycobacteria. **Rev Infect Dis**. v. 5, p. 657-679, 1983.

WALLACE, R.J. JR., ZHANG, Y., BROWN, B.A., DAWSON, D., MURPHY, D.T., WILSON, R., GRIFFITH, D.E. Polyclonal *Mycobacterium avium* complex infections in patients with nodular bronchiectasis. **Am J Respir Crit Care Med.** v. 158, p.1235–1244, 1998.

WANG, S.X., TAY, L., SNG, L.H. Rapid Identification of Pathogenic Rapidly Growing Mycobacteria by PCR-Restriction Endonuclease Analysis. **Ann Acad Med Singapore.** v. 34, p. 137-140, 2005.

WANG, Y.N., CHI, C.Q., CAI, M., LOU, Z.Y., TANG, Y.Q., ZHI, X.Y., LI, W.J., WU, X.I., DU, X. Amycolicoccus subflavus gen. nov. sp. An actinomycete isolated from a saline soil contaminated by crude oil. **Inst J Syst Evol Microbiol.** v. 60, p. 638-643, 2010.

WAYNE, L.G. The mycobacteria. In: SNEATH NSMPHA, SHARPE ME, HOLT JG. (Ed.) **Bergey's manual of systematic bacteriology.** Baltimore, Md: the Williams and Wilkins. p. 1435-1457, 1986.

WAYNE, L.G., DOUBEK, J.R. \_ Diagnostic key to mycobacteria encountered in clinical laboratories. **Appl microbiol.** v. 16, p. 925-931, 1968.

WAYNE, L.G., RUNYON, E.H., KUBICA, G.P. Mycobacteria: A guide to nomenclatural usage. **Am Rev Resp Dis.** v. 119, p. 107-159, 1969.

WILDNER, L.M.; NOGUEIRA, C.L.; SOUZA, B.S.; SENNA, S.G.; SILVA, R.M.; BAZZO, M.L. Micobactérias: epidemiologia e diagnóstico. **Rev. Patol. Trop.,** v. 40, n. 3, p. 207-229, 2011.

WINTHROP, K. L.; MCNELLY, E.; KENDALL, B.; MARSHALL-OLSON, A.; MORRIS, C.; CASSIDY, M.; SAULSON, A.; HEDBERG, K. Pulmonary nontuberculous mycobacterial disease prevalence and clinical features: an emerging public healthy disease. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.,** v. 182, n. 7, p. 977-982, 2005.

WINTHROP, K.L., STEINBERG, E.B., HOLMES, G., KAINER, M.A., WERNER, S.B., WINQUIST, A., VUGIA, D.J. Epidemic and sporadic cases of nontuberculous mycobacterial keratitis associated with laser in-situ keratomileusis. **Am J Ophthalmol** v. 135, p. 223–224, 2003.

WOLINSKY, E. Mycobacterial diseases other than tuberculosis. **Clin Infect Dis.** v. 15, p.1-12, 1992.

WOLINSKY, E. Mycobacterial lymphadenitis in children: a prospective study of 105 nontuberculous cases with long-term follow-up. **Clin Infect Dis.** v. 20, p. 954-963, 1995.

WOLINSKY, E. State of the art: nontuberculous mycobacteria and associated diseases. **Am J Respir Crit Care Med .** v. 119, p.107–159, 1979.

WOLINSKY, E., RYNEARSON, T.K. \_ Mycobacterial flora or soil. **Am J Respir Crit Care Med.** v. 94, p. 478, 1966.

WOLINSKY, E., RYNEARSON, T.K. Mycobacteria in soil and their relation to disease-associated strains. **Am J Respir Crit care Med.** v. 97, p. 1032-1037, 1968.

YATES, M.D., GRANGE, J.M., COLLINS, C.H. The nature of mycobacterial disease in South East England, 1977–84. **J Epidemiol Community Health** v. 40, p. 295–300, 1986.

YATES, M.D., POZNIAK, A., UTTLEY, A.H.C., CLARKE, R., GRANGE, J.M. Isolation of environmental mycobacteria from clinical specimens in South-East England: 1973-1993. **Int J Tuberc Lung Dis.** v. 1, p. 75-80, 1997.

YOUNG, L.S., INDERLIED, C.B., BERKIN, O.G. & GOTTLIEB, M.S. Mycobacterial infections in AIDS patients, with an emphasis on the *M. avium* complex. **Rev Infect Dis.** v. 8, p. 1024-1033, 1986.

ZAMARIOLI, L.A.; COELHO, A.G.V.; PEREIRA, C.M.; NASCIMENTO, A.C.C.; UEKI, S.Y.M.; CHIMARA. E. Estudo descritivo da frequência de micobactérias não tuberculosas na Baixada Santista. **J. Bras. Pneumol.**, v. 34, n. 8, p. 590-594, 2008.

ZAUGG, M., SALFINGER, M., OPRAVIL, M., LÜTHY, R. Extra-pulmonary and disseminated infections due to *Mycobacterium malmøense*: case report and review. **Clin Infect Dis.** v. 16, p. 540-549, 1993.

ZHANG, Y., RAJAGOPALAN, M., BROWN, B.A., WALLACE, R.J. JR. Randomly amplified polymorphic DNA for comparison of *Mycobacterium abscessus* strains from nosocomial outbreaks. **J Clin Microbiol.** v. 35, p. 3132-3139, 1997.

ZOLG, J.W., PHILIPPI-SCHULZ, S. The superoxide dismutase gene, a target for detection and identification of mycobacteria by PCR. **J Clin Microbiol.** v. 32, p. 2801-2812, 1994.



**ANEXOS****ANEXO A****FICHA DE PROTOCOLO CLÍNICO****Identificação:**

Nome: \_\_\_\_\_ Nº de ordem: \_\_\_\_\_

Bairro \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Nº do prontuário: \_\_\_\_\_

Unidade sanitária de origem: \_\_\_\_\_

Município de residência: \_\_\_\_\_

**Dados demográficos:**

Profissão: \_\_\_\_\_ Residência fora \_\_\_\_\_

Qual cidade \_\_\_\_\_

Ano de diagnóstico no ambulatório: \_\_\_\_\_

Renda Familiar: &lt; 1SM \_\_\_ 2 &gt; SM&gt;1\_\_\_ = ou &gt; 2SM\_\_\_\_\_

Grau de escolaridade: Analf \_\_\_ Fund. \_\_\_ Médio \_\_\_ Sup. \_\_\_

Uso de álcool: Sim \_\_\_ Não \_\_\_ S/ Regist. \_\_\_\_\_

História de tabagismo: Sim \_\_\_ Não \_\_\_ S/ Regist. \_\_\_\_\_

**Características do ambiente familiar**

Nº PESSOAS NO DOMICÍLIO: \_\_\_\_\_ Nº CÔMODOS \_\_\_\_\_

Dorme no mesmo cômodo \_\_\_\_\_



**Dados da micobactéria :**

Material utilizado para diagnóstico: escarro \_\_\_\_ LBA \_\_\_\_ Líquido pleural \_\_\_\_

Nº de amostras: Duas \_\_\_\_ Três \_\_\_\_ Quatro \_\_\_\_ Mais de quatro \_\_\_\_

MNT isolada: \_\_\_\_\_

Nº de mudanças no tratamento: \_\_\_\_\_

**Manifestações Clínicas:**

Sintomas respiratórios: Tosse \_\_\_\_ Expectoração \_\_\_\_ Hemoptise \_\_\_\_ dispnéia \_\_\_\_

Outros \_\_\_\_\_

Sintomas sistêmicos: febre \_\_\_\_ Anorexia \_\_\_\_ emagr. \_\_\_\_ Adinamia \_\_\_\_

Outros \_\_\_\_\_

Doença associada: Sim \_\_\_\_ Não \_\_\_\_ S/ Regist. \_\_\_\_

Qual (is) \_\_\_\_\_

Tuberculose prévia: Sim \_\_\_\_ Não \_\_\_\_ S/ Regist. \_\_\_\_\_

Desfecho: Cura \_\_\_\_ Em tratamento \_\_\_\_ abandono \_\_\_\_ Transferido \_\_\_\_ Óbito \_\_\_\_

**Quadro Radiológico:**

Unilateral \_\_\_\_ Bilateral \_\_\_\_

Achados: Fibrose \_\_\_\_ Cavidade \_\_\_\_ alveolar \_\_\_\_ Intersticial \_\_\_\_ Nódulo \_\_\_\_

Outros \_\_\_\_\_

**Exames complementares:**

Teste tuberculínico: Sim \_\_\_\_ Pos \_\_\_\_ Neg. \_\_\_\_ S/ Regist. \_\_\_\_

Sorologia HIV: Sim \_\_\_\_ Pos \_\_\_\_ Neg \_\_\_\_ Não \_\_\_\_ S/ regist. \_\_\_\_

## ANEXO B

## PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA HUWC/UFC



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO WALTER CANTÍDIO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Rua Ceará Francisco Pedro, 1288 – Fundação Tenório – 60.438-070 – Fortaleza, CE  
FONE: (85) 3366-3702 / 4611-8013 - FAX: (85) 261-4501 - E-MAIL: [cephuwc@huwc.ufc.br](mailto:cephuwc@huwc.ufc.br)

HUWC/UFC  
Comitê de Ética em Pesquisa  
Cód CEP- 059.06.02

Protocolo nº: 059.06.02

Pesquisador Responsável: Valéria Góes Ferreira Pinheiro

Departamento / Serviço: Ambulatório de Tisiologia – HUWC/UFC

Título do Projeto: “Prevalência de micobactérias não-tuberculosas em Serviços de referência para tratamento de tuberculose do Estado do Ceará.”

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Walter Cantídio analisou na sessão do dia 20/11/06 o projeto de pesquisa: “**Prevalência de micobactérias não-tuberculosas em Serviços de referência para tratamento de tuberculose do Estado do Ceará**”, tendo como pesquisadora responsável Valéria Góes Ferreira Pinheiro.

Baseando-se nas normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde (Resoluções CNS 196/96, 251/97, 292/99, 303/00, 304/00, 347/05, 346/05), o Comitê de Ética resolve classificar o referido projeto como: **APROVADO**.

Salientamos a necessidade de apresentação de relatório ao CEP-HUWC da pesquisa dentro de 12 meses (data prevista: 20/11/07).

Fortaleza, 20 de novembro de 2006.

*Marta M. C. Medeiros*  
Coordenadora do CEP HUWC

Prof. Dr. Marta M. das Chagas Medeiros  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa  
CEPHUWC/UFC

## ANEXO C

### TABELAS COM NÍVEIS DESCRITIVOS (VALORES P) PARA CADA CARACTERÍSTICA INDIVIDUAL ESTUDADA E A PATOGENICIDADE DA MNT

**Tabela 1.** Níveis descritivos (valores p) dos testes de associação entre Micobactéria potencialmente patogênica e: procedência, sexo, renda familiar, profissão, TB prévia, sintomas respiratórios, achados radiológicos, tabagismo, uso de álcool, sorologia HIV positivo, doença associada e teste tuberculínico positivo.

| Variável               | Teste       |             |        |             |             |        |
|------------------------|-------------|-------------|--------|-------------|-------------|--------|
|                        | Pearson     |             |        | RVG         |             |        |
|                        | Estatística | Assintótico | Exato  | Estatística | Assintótico | Exato  |
| Procedência            | 0,645       | 0,422       | 0,384  | 0,727       | 0,394       | 0,384  |
| Sexo                   | 0,596       | 0,440       | 0,329  | 0,613       | 0,434       | 0,329  |
| Profissão              | 0,187       | 0,665       | 0,456  | 0,189       | 0,663       | 0,456  |
| Renda familiar         | 3,249       | 0,197       | 0,244  | 3,134       | 0,209       | 0,244  |
| Hist. Prévia de TB     | 4,901       | 0,086       | 0,082  | 5,155       | 0,083       | 0,085  |
| Tabagismo              | 0,661       | 0,416       | 0,306  | 0,653       | 0,419       | 0,306  |
| Álcool                 | 0,291       | 0,590       | 0,408  | 0,292       | 0,589       | 0,408  |
| HIV                    | 6,299       | 0,043       | 0,055  | 5,180       | 0,075       | 0,085  |
| Teste Tuberculínico    | 2,885       | 0,236       | 0,343  | 2,879       | 0,237       | 0,434  |
| Doença associada       | 2,150       | 0,341       | 0,380  | 3,271       | 0,195       | 0,261  |
| Rx fibrose             | 0,001       | 0,982       | >0,999 | 0,001       | 0,982       | >0,999 |
| Rx cavidade            | 2,186       | 0,139       | 0,220  | 2,255       | 0,133       | 0,220  |
| Rx nódulo              | 0,161       | 0,688       | >0,999 | 0,150       | 0,699       | >0,999 |
| Rx padrão intersticial | 0,230       | 0,632       | 0,484  | 0,241       | 0,624       | 0,484  |
| Rx bronquiectasia      | 0,768       | 0,381       | 0,453  | 0,726       | 0,394       | 0,453  |
| Rx opacidade           | 0,970       | 0,325       | 0,282  | 0,889       | 0,346       | 0,282  |
| Tosse                  | 1,700       | 0,192       | 0,325  | 2,850       | 0,091       | 0,325  |
| Expectoração           | 0,020       | 0,889       | >0,999 | 0,019       | 0,889       | >0,999 |
| Dispnéia               | 0,094       | 0,759       | >0,999 | 0,092       | 0,762       | >0,999 |
| Hemoptise              | 1,529       | 0,216       | 0,310  | 1,681       | 0,195       | 0,310  |

**Tabela 2-** Níveis descritivos (valores p) dos testes de associação entre micobactéria raramente patogênica e: procedência, sexo, renda familiar, profissão, TB prévia, sintomas respiratórios, achados radiológicos, tabagismo, uso de álcool, sorologia HIV positivo, doença associada e teste tuberculínico positivo.

| Variável               | Teste       |             |        |             |             |        |
|------------------------|-------------|-------------|--------|-------------|-------------|--------|
|                        | Pearson     |             |        | RVG         |             |        |
|                        | Estatística | Assintótico | Exato  | Estatística | Assintótico | Exato  |
| Procedência            | 1,181       | 0,169       | 0,245  | 2,184       | 0,139       | 0,245  |
| Sexo                   | 0,687       | 0,407       | 0,571  | 0,699       | 0,403       | 0,571  |
| Profissão              | 0,404       | 0,525       | 0,585  | 0,408       | 0,523       | 0,585  |
| Renda familiar         | 9,136       | 0,010       | 0,011  | 8,734       | 0,013       | 0,024  |
| Hist. Prévia de TB     | 1,042       | 0,594       | 0,587  | 1,041       | 0,594       | 0,644  |
| Tabagismo              | 0,234       | 0,628       | 0,780  | 0,233       | 0,629       | 0,780  |
| Álcool                 | 1,014       | 0,314       | 0,412  | 1,019       | 0,313       | 0,412  |
| Sorologia HIV          | 3,249       | 0,197       | 0,237  | 3,057       | 0,217       | 0,366  |
| Teste Tuberculínico    | 4,363       | 0,113       | 0,084  | 4,485       | 0,106       | 0,084  |
| Doença associada       | 3,543       | 0,170       | 0,188  | 5,084       | 0,079       | 0,131  |
| Rx fibrose             | 1,146       | 0,284       | 0,224  | 1,192       | 0,275       | 0,224  |
| Rx cavidade            | 1,412       | 0,235       | 0,181  | 1,429       | 0,232       | 0,181  |
| Rx nódulo              | 1,515       | 0,218       | 0,263  | 1,414       | 0,234       | 0,263  |
| Rx padrão intersticial | 1,490       | 0,222       | 0,302  | 1,621       | 0,203       | 0,302  |
| Rx bronquiectasia      | 0,406       | 0,524       | 0,734  | 0,396       | 0,529       | 0,734  |
| Rx opacidade           | 1,071       | 0,301       | 0,424  | 1,023       | 1,312       | 0,424  |
| Tosse                  | 2,802       | 0,094       | 0,156  | 4,374       | 0,036       | 0,156  |
| Expectoração           | 0,069       | 0,793       | >0,999 | 0,069       | 0,792       | >0,999 |
| Dispneia               | 0,806       | 0,369       | 0,483  | 0,780       | 0,377       | 0,483  |
| Hemoptise              | 0,776       | 0,378       | 0,539  | 0,802       | 0,370       | 0,539  |

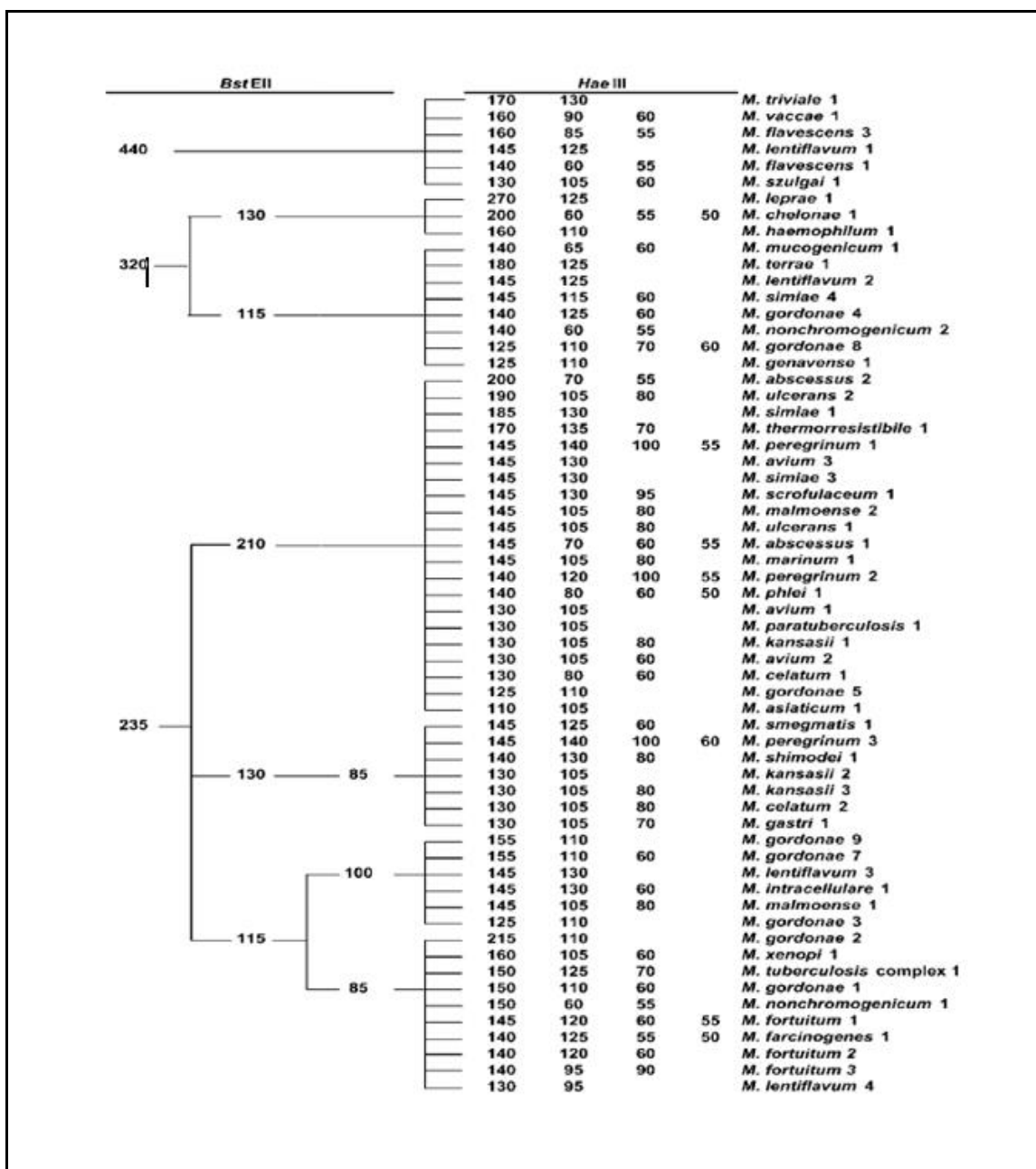
Dado a pequena amostra, é mais confiável utilizar o valor p exato para efeito de conclusão. Por conseguinte, conclui-se que nenhuma das variáveis apresentou associação significativa com a MNT potencialmente patogênica, e que apenas a variável renda familiar apresentou associação significativa com a MNT raramente patogênica, ao nível de 5%.

## **ANEXO D**

### **PLANILHA COM DADOS DOS PACIENTES ESTUDADOS**

## ANEXO E

## ALGORITMO DE IDENTIFICAÇÃO DE MICOBACTÉRIAS



Fonte: Leão et al., 2004.

## ANEXO F



Agência Nacional de  
Vigilância Sanitária - ANVISA

REDE NACIONAL DE INVESTIGAÇÃO DE SURTOS  
SERVIÇOS DE SAÚDE

Nº

FICHA DE NOTIFICAÇÃO DE CASO DE MICOBACTERIOSE NÃO TUBERCULOSA  
(MCR) APÓS PROCEDIMENTOS MÉDICOS INVASIVOS

|  |   |   |   |   |
|--|---|---|---|---|
| Dados Gerais                                   | 1 Notificador<br>( ) Profissional de saúde ( ) CCIH ( ) CECIH ( ) paciente/Informante ( ) Outros _____  |   | 2 Data da Notificação   |   |
|  | 3 Município da Notificação  |   | 4 Código (IBGE)   |   |
|  | 5 Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora)  |   | 6 Código  |   |
| Dados do Caso                                  | 7 Nome do Paciente  |   | 8 Data dos Primeiros Sintomas   |   |
|  | 9 Data de Nascimento  | 10 (ou) Idade<br>D - dias<br>M - meses<br>A - anos                                  | 11 Sexo<br>M - Masculino<br>F - Feminino<br>I - Ignorado  | 12 Raça/Cor<br>1 - Branca 2 - Preta 3 - Amarela<br>4 - Parda 5 - Indígena 9 - Ign |
|  | 13 Escolaridade (anos de estudo concluídos)<br>1 - Nenhuma 2 - De 1 a 3 3 - De 4 a 7<br>4 - De 8 a 11 5 - De 12 e mais 9 - Ign  |   | 14 Nome da mãe  |   |
|  | 15 Doença básica motivo do procedimento   |   | 16 Doenças pre-existentis<br>( ) Diabetes ( ) Imunossuprimido ( ) Renal crônico ( ) Outras _____  |   |
|  | 17 Pagamento do procedimento<br>( ) SUS ( ) Convênio ( ) Particular   |   | 18 Nome da instituição que realizou o procedimento  |   |
| Dados da instituição do procedimento realizado | 19 Município de localização da instituição  |   | 20 Logradouro (rua, avenida,...)  |   |
|  | 21 Número   |   | 22 Bairro   |   |
|  | 23 UF   |   | 24 Procedimento realizado   |   |
|  | 25 Via de acesso<br>( ) Videocirurgia ( ) Vídeo convertida ( ) Convencior   |   | 26 Data do procedimento   |   |
|  | 27 Nome do Médico Cirurgião   |   | 28 Nome do Médico auxiliar  |   |
|  | 29 Equipe opera em outras instituições?<br>1 - Sim 2 - Não 9 - Ign  |   | 30 Utilizou somente instrumentais da instituição?<br>1 - Sim 2 - Não 9 - Ign  |   |
|  | 31 N.º de cirurgias semelhante a essa, a equipe efetuou no dia?   |   | 32 N.º de ordem da mesma equipe, essa cirurgia se encaixa no dia?   |   |
| 33   |   | 34 Aconteceu outro caso suspeito de MCR nesse mesmo dia?<br>1 - Sim 2 - Não 9 - Ign |   |   |
| <b>Dados Complementares do Caso</b>            |   |   |   |   |
| Clínica e laboratório                          | 35 Sinais e Sintomas<br>1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado<br><input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Edema (inchaço) <input type="checkbox"/> Fistulização (drenagem) <input type="checkbox"/> Granuloma<br><input type="checkbox"/> Hiperemia (vermelhidão) <input type="checkbox"/> Vesículas (bolhas) <input type="checkbox"/> Secreção (serosa - piosanguinolenta)<br><input type="checkbox"/> Hipertermia (calor) <input type="checkbox"/> Nódulos (tumorações) <input type="checkbox"/> Difícil cicatrização |   |   |   |
|  | 36 Coletada amostra clínica?<br>1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado  |   | 37 Tipo de coleta?<br>1 - Secreção 2 - Biópsia  |   |
|  | 38 Exame realizado<br>( ) Bacterioscopia ( ) PCR<br>( ) Cultura ( ) Histopatológico   |   | 39 Data da coleta da amostra  |   |
| Tratamento                                     | 40 MCR identificado na amostra<br>1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado  |   | 41 Se sim, qual MCR?  |   |
|  | 36 Tratamento iniciado?<br>1 - Sim 2 - Não 9 - Ign  |   | 37 Data do início tratamento  |   |
|  | 38 Antibióticos<br>1 _____ 2 _____<br>3 _____ 4 _____   |   | 39 Os instrumentos cirúrgicos invasivos utilizados são autoclaváveis?<br>1 - Sim 2 - Não 9 - Ign  |   |
| Processamento                                  | 40 Os trocâteres descartáveis foram reprocessados?<br>1 - Sim 2 - Não 9 - Ign   |   | 41 Outros materiais de uso único foram reprocessados?<br>1 - Sim 2 - Não 9 - Ign  |   |
|  | 42 O reprocessamento de material termo-sensível é realizado no:<br>1 - CME* da própria instituição<br>2 - Dentro do bloco cirúrgico da instituição<br>3 - CME terceirizada  |   | 43 Qual(is) método(s) utilizado(s) no reprocessamento dos termo sensíveis?<br>1 - Sim 2 - Não 9 - Ign<br><input type="checkbox"/> Autoclavação <input type="checkbox"/> Glutaraldeído <input type="checkbox"/> Plasma de Peróxido de hidrogênio<br><input type="checkbox"/> Óxido de Etileno <input type="checkbox"/> Ácido Peracético <input type="checkbox"/> Outro _____ |   |
|  | 44 O instrumental de vídeo é exclusivo da instituição?<br>1 - Sim 2 - Não 9 - Ign   |   | 45 Número médio do procedimento na instituição por mês  |   |
| Conclusão                                      | 46 Este caso foi notificado antes para:<br>( ) Vigil. Sanitária ( ) CCIH** da instituição<br>( ) Vigilância epidemiológica ( ) Caso não notificado  |   | 47 Evolução<br>1 - Curá 3 - Melhorado<br>2 - Óbito 4 - em Tratamento<br>9 - Ignorado  |   |
|  | 48 Classificação final do caso<br>1 - Confirmado por laboratório 2 - Confirmado por clínica 3 - Confirmado por vínculo epidemiológico<br>4 - Confirmado pelos critérios (1, 2, 3) 5 - Descartado 6 - Em andamento   |   | 49 Nome   |   |
| Investigador                                   | 50 Função   |   | 51  |   |