

Artigo Original

Ocorrência de tuberculose em um hospital psiquiátrico do interior de Goiás*

Tuberculosis in a Psychiatric Hospital in the state of Goiás, Brazil

HINDENBURG CRUVINEL GUIMARÃES DA COSTA¹, ANA CAROLINA MALASPINA¹,
FERNANDO AUGUSTO FIÚZA DE MELLO², CLARICE QUEICO FUJIMURA LEITE³

RESUMO

Objetivo: Investigar a prevalência de infecção, doença e eventual surto institucional de tuberculose em um hospital psiquiátrico empregando teste tuberculínico, pesquisa de micobactéria em material da árvore respiratória e técnica de rastreamento molecular baseada na seqüência IS6110. **Métodos:** Durante o período de fevereiro a agosto de 2002, foi realizado teste tuberculínico entre os 74 internos e os 31 funcionários de um hospital psiquiátrico na Cidade de Rio Verde (GO), pesquisa de *Mycobacterium tuberculosis* em material da árvore respiratória dos pacientes e estudo do perfil genético pelo método *restriction fragment length polymorphism - IS6110*. **Resultados:** Micobactérias foram isoladas de 5 pacientes analisados (6,8 %), sendo em quatro *M. tuberculosis* e em um *M. chelonae*. Os isolados de *M. tuberculosis* foram sensíveis a isoniazida e rifampicina e, através da técnica *restriction fragment length polymorphism - IS6110*, apresentaram perfis genéticos únicos, totalmente distintos uns dos outros, indicando que os casos de tuberculose encontrados eram decorrentes de reativação endógena, não sendo possível caracterizá-los como um surto institucional. Através da realização do teste tuberculínico em dois passos nos pacientes, verificaram-se taxas de infecção de 23% e 31%. Entre os funcionários a taxa foi de 42%, não tendo sido realizada entre estes a repetição do teste. **Conclusão:** Os resultados indicaram uma incidência considerável de tuberculose infecção entre os pacientes e funcionários, sendo também elevada a ocorrência de tuberculose doença entre os pacientes.

Descritores: Tuberculose/epidemiologia; *Mycobacterium tuberculosis*; Hospitais psiquiátricos; Teste tuberculínico; *Mycobacterium chelonae*

ABSTRACT

Objective: To investigate the prevalence of infection, disease and eventual institutional outbreak of tuberculosis in a psychiatric hospital using the PPD test, as well as testing for mycobacteria in material collected from the respiratory tree and using molecular tracking technique based on insertion sequence 6110 (IS6110). **Methods:** Between February and August of 2002, PPD tests were given to 74 inpatients and 31 staff members at a psychiatric hospital in the city of Rio Verde, located in the state of Goiás, Brazil. In addition, respiratory tree material collected from the inpatients was submitted to testing for *Mycobacterium tuberculosis*. **Results:** Among the patients analyzed, mycobacteria were isolated from five (6.8%): four identified as *M. tuberculosis* and one as *M. chelonae*. The *M. tuberculosis* isolates were sensitive to isoniazid and rifampicin, and, when submitted to the restriction fragment length polymorphism/IS6110 technique, presented unique genetic profiles, totally distinct from one another, suggesting that all of the tuberculosis cases were due to endogenous reactivation. It was not possible to characterize this group of cases as an institutional outbreak. Performing the two-step tuberculin test in the patients, the infection rates were 23% and 31%, compared with 42% among staff members, who were submitted to the one-step test. **Conclusion:** The results indicate a high incidence of tuberculosis infection among inpatients and hospital staff, as well as a high occurrence of the disease among inpatients.

Keywords: Tuberculosis/epidemiology; Hospitals, psychiatric; *Mycobacterium tuberculosis*; Tuberculin test; *Mycobacterium chelonae*

* Trabalho realizado na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista "Julio Mesquita Filho" - UNESP - Araraquara (SP) Brasil.

1. Mestre em Análises Clínicas da Universidade Estadual Paulista "Julio Mesquita Filho" - UNESP - Araraquara (SP) Brasil.

2. Doutor em Pneumologia pela Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP - São Paulo (SP) Brasil; Instituto Clemente Ferreira - São Paulo (SP) Brasil.

3. Professora Doutora Adjunta de Microbiologia da Universidade Estadual Paulista "Julio Mesquita Filho" - UNESP - Araraquara (SP) Brasil.

Endereço para correspondência: Clarice Queico Fujimura Leite. Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP. Rodovia Araraquara - Jaú, Km 01 - CEP: 14801-902, Araraquara, SP, Brasil. Tel: 55 16 3301-6953.

Email: leitecqf@fcar.unesp.br

Recebido para publicação em 25/3/05. Aprovado, após revisão, em 21/3/06.

INTRODUÇÃO

Apesar de se conhecer o agente etiológico, suas formas de transmissão e de se dispor de tratamento eficaz, a tuberculose (TB) ainda é a causa mais comum de morte infecciosa em adultos no mundo.⁽¹⁾ No Brasil são estimados cerca de 111.000 casos novos e aproximadamente 6.000 óbitos por ano, tendo sido notificados 81.432 casos no ano de 2001.⁽²⁾

A ocorrência de TB entre os clientes e profissionais que trabalham em hospitais, casas de repouso e prisões é maior do que na população em geral, inclusive com riscos de surtos institucionais. Estudos mostram que a taxa de transmissão é muito alta nesses ambientes, sendo a prevalência da TB em pacientes institucionalizados dezesseis vezes maior do que a da população em geral.⁽³⁾ Em hospitais é verificado, ainda, grande risco de disseminação de formas multirresistentes.⁽⁴⁾ Alguns autores⁽⁵⁾ verificaram alta taxa de resistência a drogas (17,2%) entre 58 amostras de *Mycobacterium tuberculosis* isolados em um sanatório penal masculino no Rio de Janeiro.

Para investigar surtos de TB em instituições, apenas a identificação da espécie não é suficiente. A aplicação de técnicas moleculares na diferenciação de cepas de *M. tuberculosis* tem sido implementada a partir do final da década de 1980 e início da de 1990, com a detecção e a caracterização dos elementos repetitivos no genoma de bactérias pertencentes ao complexo *M. tuberculosis*.⁽⁶⁻⁷⁾ Entre os diversos elementos repetitivos identificados, a mesma seqüência de inserção IS6110 empregada no diagnóstico tem sido utilizada como marcador para a diferenciação de cepas de *M. tuberculosis*. A inserção irregular de IS6110 no genoma das micobactérias permite a discriminação de cepas através da técnica de *DNA fingerprinting*, a análise de *restriction fragment length polymorphism* (RFLP), e seu uso tem sido amplamente utilizado e recomendado, podendo ser realizada de forma reprodutiva e padronizada.⁽⁸⁾ O método de RFLP resultante da combinação das técnicas de *Southern Blot* e hibridação com sondas construídas, partindo-se da seqüência de DNA da IS6110 (RFLP-IS6110), tem sido o mais empregado para a caracterização molecular de cepas de *M. tuberculosis*.⁽⁹⁾ Alguns autores⁽¹⁰⁾ usaram a metodologia de RFLP como estudo epidemiológico em pacientes internos de um hospital psiquiátrico em Havana, Cuba, servindo de instrumento para o controle da doença.

É de importância fundamental estimar-se a prevalência da infecção por *M. tuberculosis* entre os pacientes institucionalizados, bem como entre os profissionais que estão em contato constante com eles. Quantificar a resposta cutânea ao teste tuberculínico, incluindo o reteste para avaliar o efeito *booster*, é a metodologia mais aceita para essa finalidade.

O objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência da tuberculose infecção e doença entre pacientes de uma instituição psiquiátrica de longa permanência, procurando avaliar a possibilidade de transmissão intra-institucional dos casos de doença identificados e estimar a prevalência de infecção entre os funcionários dessa instituição.

MÉTODOS

Durante o período de fevereiro a agosto de 2002, foi realizada a pesquisa de micobactérias em material proveniente da árvore respiratória (escarro ou saliva) dos 74 pacientes internos, sintomáticos respiratórios ou não (39 mulheres e 35 homens), de um hospital psiquiátrico do interior de Goiás. O hospital apresenta uma estrutura física de 384 m², com 21 enfermarias, havendo separação das alas ambulatoriais em masculina e feminina.

O estudo teve aprovação do comitê de ética do referido hospital e foi acompanhado por um corpo clínico especializado em clínica geral, radiologia e tisiologia, sendo todos os pacientes submetidos a exames clínicos, laboratoriais e radiológicos. Foram coletadas três amostras de material proveniente da árvore respiratória de todos os pacientes, em dias consecutivos. Paralelamente, foram realizados testes tuberculínicos entre os pacientes e os 31 funcionários do hospital (12 auxiliares de cozinha, 11 funcionários da enfermagem, 3 funcionários administrativos, 3 médicos, 1 psicólogo e 1 farmacêutico).

Para a pesquisa de micobactérias foram preparados dois esfregaços corados pela técnica de Ziehl-Neelsen. O restante da amostra foi destinado ao cultivo pela técnica de Kudoh e Kudoh.⁽¹¹⁾ As colônias com características de micobactérias foram repicadas para novos tubos de Ogawa para identificação através da metodologia clássica recomendada pelo Ministério da Saúde⁽¹²⁾ e pela análise dos ácidos micólicos.⁽¹³⁾ Foram consideradas micobactérias do complexo *M. tuberculosis* as que apresentaram crescimento lento e resultados positivos para as provas bioquímicas de nitrato-re-

ductase, urease e negativos para arilsulfatase, sendo os resultados inversos para *M. chelonae*. Os isolados foram em seguida submetidos ao teste de sensibilidade pelo método das proporções.⁽¹²⁾

As cepas de *M. tuberculosis* foram também submetidas à técnica de RFLP para a tipagem molecular, empregando-se a metodologia proposta por van Soolingen *et al.*⁽¹⁴⁾ Inicialmente, a extração do DNA foi realizada com lizozima, proteinase K e clorofórmio/álcool isoamílico (24:1). Na seqüência, aproximadamente 3 µg de DNA de cada amostra foram digeridos com 5 U da enzima Pvu II e submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1% para separação dos fragmentos. A hibridação dos fragmentos foi realizada com sonda marcada com digoxigenina. O perfil genético de cada cepa foi analisado com o auxílio do programa *GelCompar* II versão 2.0 para *Windows* (Applied Maths, Kortrijk, Bélgica).

Para avaliação da prevalência da infecção entre pacientes e funcionários foi empregado o PPD-Rt23 para o teste tuberculínico em dois passos. Para isto, 0,1 ml de PPD-RT23, correspondente a 2 UT, foi injetado na face anterior do antebraço esquerdo de cada paciente ou funcionário, e o resultado foi verificado após 48 a 72 horas, aferindo-se a área de endurecimento.⁽¹⁵⁾ Três semanas depois, pacientes com endurecimento inferior a 10 mm foram submetidos a uma nova aplicação para se avaliar o efeito *booster*. Entre os profissionais de saúde não foi realizado o segundo teste por motivos operacionais.

RESULTADOS

Dentre os 74 internos analisados, 64 estavam em tratamento por deficiência mental, cinco eram

dependentes de álcool e os demais apresentavam os dois problemas simultaneamente. Não foi verificado nenhum caso de uso de drogas ilícitas. Segundo os prontuários médicos, não havia nenhum relato de paciente com história sugestiva ou suspeita de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana. Das 39 mulheres internas, 36 apresentavam idade entre 21 e 50 anos, e 3 idade acima de 50 anos. Dos 35 homens, 30 tinham idade entre 21 e 50 anos, e 5 idade acima de 50 anos. O tempo de internação dos pacientes analisados variou de três a dezenove meses, com uma média de nove meses. A baciloscopia foi positiva em apenas uma paciente e negativa nos demais 73 pacientes. Entretanto, através do cultivo, as micobactérias foram isoladas de amostras de 5 pacientes (6,8%), tendo sido identificadas 4 cepas de *M. tuberculosis* e 1 de *M. chelonae*. Apesar do maior número de pacientes do sexo feminino, todos os casos de TB ocorreram entre os pacientes do sexo masculino. Entretanto, a única espécie de micobactéria não tuberculosa (MNT), *M. chelonae*, foi isolada de uma mulher. As cepas de *M. tuberculosis* foram sensíveis a isoniazida e rifampicina, e a de *M. chelonae* foi resistente às duas drogas testadas. As imagens no radiograma convencional dos pulmões não foram sugestivas de TB pulmonar (ausência de cavidades) entre os pacientes com cultura de escarro positiva.

Na análise do DNA genômico através da técnica do RFLP-*IS6110*, os quatro isolados de *M. tuberculosis* apresentaram de dez a treze cópias de *IS6110*. Os perfis genéticos obtidos foram avaliados com o auxílio do programa *GelCompar* II versão 2.0 (Applied Maths, Kortrijk, Bélgica) e os resultados são apresentados na Figura 1.



Figura 1 - Perfil dos quatro isolados de *M. tuberculosis* definidos através do RFLP-*IS6110*. As bandas foram alinhadas utilizando-se como referência a cepa Mt 14323
RFLP: *restriction fragment length polymorphism*

TABELA 1

Correlação entre o perfil genético das cepas obtido pela *restriction fragment length polymorphism* e a epidemiologia dos pacientes de tuberculose identificados pela cultura do *M. tuberculosis*

	Cepas			
	1	2	3	4
Perfil genético	I	II	III	V
Sexo	Masculino	Masculino	Masculino	Masculino
Idade	46	49	39	53
Doenças associadas	Alcoolismo	Alcoolismo	Alcoolismo	Esquizofrenia
Procedência	Rio Verde, GO	Pedreira, MA	Rio Verde, GO	Maurilândia, GO
Tempo de internação (meses)	3	6	19	9
Compartilhavam o mesmo quarto?	Não	Não	Não	Não

TABELA 2

Distribuição dos resultados de teste tuberculínico entre os pacientes frente às diferentes variáveis

Pacientes (74)	Idade		Tempo de internação	Doenças associadas		
	21-50	>50		Etil	DM	Etil+DM
PPD + (19)	18	1	Média de 16 meses	4	12	3
PPD - (55)	48	7	Média de 09 meses	5	49	1
Booster (04)	4	-	Média de 16 meses	-	4	-

Etil: etilista; DM: doença mental; PPD: teste tuberculínico.

Os quatro isolados do complexo *M. tuberculosis* apresentaram perfis genéticos únicos, ou seja, totalmente distintos uns dos outros. Nenhum grupo genético, identificado por amostras que compartilham o mesmo perfil de bandas, foi observado. Estes dados são reforçados pela ausência de correlação epidemiológica também verificada através da análise de prontuários médicos. Os resultados da correlação são apresentados na Tabela 1.

Entre os pacientes, o teste tuberculínico em dois passos mostrou uma positividade inicial de 25,7% (19/74) e no reteste de 31,1% (23/74), verificando-se o efeito booster em quatro pacientes (Tabela 2). Entre os profissionais, a positividade foi de 42% (13/31), sendo os resultados apresentados na Tabela 3. Taxa de positividade à tuberculina maior foi encontrada entre os profissionais com maior tempo de trabalho (30 meses e dezoito meses, respectivamente para os grupos tuberculina positiva e negativa).

A profissão de enfermeiro seguida pela de auxiliar de cozinha apresentaram-se como sendo as variáveis de maior risco, sendo neste grupo a positividade de 55,5% e de 46%, respectivamente. Entre os profissionais médicos e os auxiliares administrativos foi verificada a mesma taxa de infecção

TABELA 3

Distribuição dos resultados de teste tuberculínico entre os profissionais frente às diferentes variáveis

Variáveis	Profissionais (31)	
	PPD + (13)	PPD - (18)
Idade (anos)		
21 - 50	13	15
>50	-	3
Tempo de trabalho (meses)	Média de 30	Média de 18
Profissão		
Enfermeiro (17)	6	11
Auxiliar de cozinha (17)	5	12
Auxiliar administrativo (4)	1	3
Médico (04)	1	3
Farmacêutico/psicólogo (2)	-	2

PPD: teste tuberculínico.

de 33,3%. Entretanto, devido ao pequeno número da casuística, os resultados são apresentados apenas como dados detectados e não como uma tendência passível de análise.

DISCUSSÃO

Os pacientes encontravam-se confinados no

hospital psiquiátrico por tempo prolongado, saindo apenas para alguns procedimentos de urgências hospitalares. Devido ao fato de dormirem em grupos de até cinco pessoas por quarto, com ventilação precária, e por conviverem em uma única sala de recreação e outra de refeições, torna-se possível o risco de transmissão da TB entre os internos e até mesmo para os profissionais de saúde que dão o atendimento no hospital.

Este estudo identificou um caso de micobacteriose causada por MNT. Não há relatos de estudos nacionais, porém alguns autores,⁽¹⁶⁾ em ambientes enclausurados de Tel Hashomer, Israel, encontraram taxa de incidência de 5% a 7% de MNT. O isolamento de *M. chelonae* está de acordo com a observação do aumento mundial da incidência de MNT desde o advento da epidemia da síndrome da imunodeficiência adquirida.⁽¹⁷⁻¹⁸⁾ Neste estudo, *M. chelonae* foi isolado de uma paciente, que no seu histórico hospitalar fazia tratamento para alcoolismo e não tinha síndrome da imunodeficiência adquirida. A ocorrência de MNT é favorecida em pacientes que apresentam alterações no estado imunológico, seja por dependência do álcool, seja por imunodepressão. A cepa de *M. chelonae* apresentou resistência a isoniazida e rifampicina, que foram as drogas analisadas, o que confirma os dados da literatura de que as MNT são refratárias aos medicamentos utilizados no tratamento da TB.

Em relação ao estudo da epidemiologia da TB, há que se destacar que a TB doença pode advir tanto pela progressão de uma infecção recente, por infecção ou reinfeção exógena, como pela reativação de uma infecção latente adquirida no passado, sendo esta conhecida como reativação endógena. Esses eventos podem ser determinados por características intrínsecas do hospedeiro, do *M. tuberculosis* ou de ambos.⁽¹⁹⁾ Segundo alguns autores,⁽²⁰⁾ os casos de TB associados às cepas de *M. tuberculosis* com perfis genéticos idênticos são decorrentes da transmissão recente do bacilo, e os casos da doença causados por cepas com perfis únicos são resultantes da reativação endógena de uma infecção latente adquirida no passado. Considera-se ainda que exista uma conexão epidemiológica entre os pacientes infectados por cepas que apresentam, na técnica de RFLP, perfis genéticos idênticos.⁽²¹⁾

Neste trabalho, os perfis genéticos das quatro cepas foram todos distintos uns dos outros. Ne-

nhum grupo genético foi observado, não sendo possível estabelecer-se uma correlação entre o estudo molecular e os dados epidemiológicos, anterior ou atual, nos portadores de TB pulmonar identificados. Neste sentido, diante da ausência de uma conexão epidemiológica, é plausível que cada isolado de *M. tuberculosis* com perfil genético próprio, tal como foi encontrado, seja consequência de reativação endógena. Esta constatação é reforçada pelos resultados de escarro negativo, com os bacilos recuperados apenas de cultura, associados aos resultados do exame radiológico, atípicos para TB, com ausência de cavidades, sugerindo comprometimento pulmonar com lesões paucibacilares e baixa possibilidade de transmissão.

As condições imunodebilitantes a que estão sujeitos os pacientes, como doenças associadas ao próprio hospital e o tempo de confinamento, podem ter ocasionado a reativação de infecção latente. Este fato justificaria também a alta incidência de doentes encontrados no hospital, 4 de 74 pacientes internados, enquanto que a incidência no Brasil é de 47,2/100.000 habitantes⁽²⁾ e na cidade de Rio Verde (GO), onde foi realizada a pesquisa, de 26/100.000 habitantes.⁽²²⁾

A taxa de infecção de 31% entre os internos revela risco elevado de adoecimento destes pacientes infectados, favorecido pelas condições inerentes da internação prolongada. A diferença de 6% de prevalência de infecção detectada pelo efeito *booster* reforça a idéia da imunodebilidade entre os pacientes institucionalizados, suscitando a necessidade de protegê-los com quimioprofilaxia.

A taxa de infecção de 42% entre os funcionários, mesmo sem reteste tuberculínico, mais alta que nos internos, revela os riscos ocupacionais e indica a necessidade de uma política de biossegurança. Em estudo de 1998,⁽²³⁾ observou-se semelhança nas taxas de infecção dos funcionários de um hospital universitário e de um grupo controle constituído por funcionários do restaurante de uma instituição bancária (56% versus 53%), pareados por salários, na cidade de São Paulo (SP). Este dado pode justificar o nosso achado de as taxas de tuberculina positiva serem semelhantes entre o corpo de enfermagem e o pessoal da cozinha do hospital analisado (Tabela 3). Em outro estudo,⁽²⁴⁾ encontrou-se prevalência de infecção por *M. tuberculosis* de 51% entre os profissionais de saúde de uma instituição hospitalar universitária na cidade do Rio de Janeiro.

ro (RJ). Mesmo entre estudantes de Medicina, alguns autores⁽²⁵⁾ verificaram taxas crescentes de positividade de 4%, 6,4% e 13%, de acordo com o progredir das atividades práticas, aumento também indicado por outros autores⁽²⁶⁾ entre funcionários de uma referência ambulatorial para TB na cidade de São Paulo.

Em ambientes fechados como o de um hospital psiquiátrico, há predisposição para a disseminação da TB, o que nos faz sugerir a necessidade de monitoramento constante dos pacientes, através de cultivo das amostras de escarros, detectando assim casos de TB ainda na fase paucibacilar para que a transmissão possa ser evitada.

O fato de não se poder caracterizar os achados como um surto institucional tanto pode decorrer das condições específicas da instituição onde o estudo foi realizado, como das formas de baixa possibilidade de transmissão com que a doença se apresentou nos casos identificados.

No Brasil, três estudos recentes de epidemiologia molecular, mapeando cepas bacilares pela técnica de RFLP, observaram agrupamentos genéticos similares correspondentes a infecções recentes e adoecimentos resultantes de reinfecção exógena, com taxas de: 23% e 37%, no Rio de Janeiro e no Rio Grande do Sul, respectivamente, entre 1991 e 1994;⁽²⁷⁾ 33%, na cidade de São Paulo, entre 1995 e 1997;⁽²⁸⁾ 29% em Araraquara (SP), entre 2000 e 2002.⁽²⁹⁾ Ainda que iniciais e limitados, estes estudos tendem a apontar para o fato de que, no país, os casos novos são predominantemente de reativação endógena, provenientes de antigos infectados, e representam algo em torno de 70% dos casos, o que justifica, de certa forma, os achados do presente estudo.

Como consequência deste estudo, os pacientes com tuberculose foram tratados e os com o teste tuberculínico positivo, submetidos a quimioprofilaxia. A direção da instituição também estuda a possibilidade de realizar o teste tuberculínico entre os novos ingressantes. Em relação aos funcionários, foi adotada a obrigatoriedade do teste tuberculínico e do radiograma de tórax em todos que forem admitidos futuramente.

REFERÊNCIAS

1. Raviglione MC, Snider DE Jr, Kochi A. Global epidemiology of tuberculosis. Morbidity and mortality of a worldwide epidemic. *JAMA*. 1995;273(3):220-6.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Divisão de Vigilância Epidemiológica. Coordenação de Doenças Endêmicas. Área Técnica de Pneumologia Sanitária. Plano Nacional de Controle da Tuberculose. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2004.
3. Rasolofo-Razanamparany V, Menard D, Ratsitorahina M, Auregan G, Gicquel B, Chanteau S. Transmission of tuberculosis in the prison of Antananarivo (Madagascar). *Res Microbiol*. 2000;151(9):785-95.
4. Kritski AL, Marques MJ, Rabahi MF, Vieira MA, Werneck-Barroso E, Carvalho CE, et al. Transmission of tuberculosis to close contacts of patients with multidrug-resistant tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;153(1):331-5.
5. Lourenço MCS, Silva MO, Fonseca LS. Multidrug-resistant tuberculosis among inmates in Rio de Janeiro, Brazil. *J Microbiol*. 2000;31(1):17-9.
6. Eisenach KD, Cave MD, Bates JH, Crawford JT. Polymerase chain reaction amplification of a repetitive DNA sequence specific for *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis*. 1990;161(5):977-81.
7. Hermans PW, Messadi F, Guebrexabher H, van Soolingen D, de Haas PE, Heersma H, et al. Analysis of the population structure of *Mycobacterium tuberculosis* in Ethiopia, Tunisia, and The Netherlands: usefulness of DNA typing for global tuberculosis epidemiology. *J Infect Dis*. 1995;171(6):1504-13.
8. Kremer K, van Soolingen D, Frothingham R, Haas WH, Hermans PW, Martin C, et al. Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility. *J Clin Microbiol*. 1999;37(8):2607-18.
9. van Embden JD, Cave MD, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B, et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J Clin Microbiol*. 1993;31(2):406-9.
10. Diaz R, Gomez R, Restrepo E, Rumbaut R, Sevy-Court J, Valdivia JA, et al. Transmission of tuberculosis in Havana, Cuba: a molecular epidemiological study by IS6110 restriction fragment length polymorphism typing. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2001;96(4):437-43.
11. Kudoh S, Kudoh T. A simple technique for culturing tubercle bacilli. *Bull World Health Organ*. 1974;51(1):71-82.
12. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro de Referência Prof. Hélio Fraga. Manual de bacteriologia da tuberculose 2a ed. Rio de Janeiro; 1994.
13. Leite CQ, de Souza CW, Leite SR. Identification of mycobacteria by thin layer chromatographic analysis of mycolic acids and conventional biochemical method: four years of experience. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1998;93(6):801-5.
14. van Soolingen D, Hermans PW, de Haas PE, Soll DR, van Embden JD. Occurrence and stability of insertion sequences in *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: evaluation of an insertion sequence-dependent DNA polymorphism as a tool in the epidemiology of tuberculosis. *J Clin Microbiol*. 1991;29(11):2578-86.
15. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro de Referência Prof. Hélio Fraga. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Controle da tuberculose: uma

- proposta de integração ensino-serviço. 5a ed. Rio de Janeiro; 2002. p.61-97.
16. Zeenreich A, Gochstein B, Grinshpoon A, Miron M, Rosenman J, Ben-Dov I. [Recurrent tuberculosis in a psychiatric hospital, recurrent outbreaks during 1987-1996] Harefuah. 1998;134(3):168-72, 248, 247. Hebrew.
 17. Shih JY, Hsueh PR, Lee LN, Wang HC, Yang PC, Kuo SH, et al. Nontuberculous mycobacteria isolates: clinical significance and disease spectrum. J Formos Med Assoc. 1997;96(8):621-7.
 18. Tartaglione T. Treatment of nontuberculous mycobacterial infections: role of clarithromycin and azithromycin. Clin Ther. 1997;19(4):626-38; discussion 603.
 19. Melo FFA, Afiune JB. Transmissão e imunopatologia da tuberculose. J Pneumol. 1993;19(1):19-24.
 20. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. Molecular Typing Working Group of the Society for Healthcare Epidemiology of America. Infect Control Hosp Epidemiol. 1997;18(6):426-39.
 21. Park YK, Bai GH, Kim SJ. Restriction length polymorphism analysis of Mycobacterium tuberculosis isolated from countries in the western pacific region. J Clin Microbiol. 2000;38(1):191-7.
 22. Goiás. Prefeitura Municipal de Rio Verde. Secretaria Municipal de Saúde. Informações fornecidas referentes ao ano de 2002.
 23. Mathiasi Neto PA. Prevalência da infecção pelo Mycobacterium tuberculosis em profissionais de saúde do Hospital São Paulo, de acordo com o local de trabalho [tese]. São Paulo; Universidade Federal de São Paulo; 1998.
 24. Muzy de Souza, GR. Tuberculose entre profissionais em hospital geral: análise do efeito booster e conversão do teste tuberculínico [tese]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2000.
 25. Soares LCP, Queiroz M, Kritski AL. Prevalência da prova tuberculínica entre alunos da Faculdade de Medicina de Campos (RJ). J Bras Pneumol. 2004;30(4):350-7.
 26. Melo FFA, Afiune JB. Tuberculose: uma doença ocupacional. Infecção, adoecimento e proteção dos profissionais de saúde em serviço de atenção à tuberculose. Bol Pneum Sanit. 1995;3:56-68.
 27. Suffys PN, Ivens de Araujo ME, Rossetti ML, Zahab A, Barroso EW, Barreto AM, et al. Usefulness of IS6110-restriction fragment length polymorphism typing of Brazilian strains of Mycobacterium tuberculosis and comparison with an international fingerprint database. Res Microbiol. 2000;151(5):343-51.
 28. Ferrazoli L, Palaci M, Marques LR, Jamal LF, Afiune JB, Chimara E, et al. Transmission of tuberculosis in an endemic urban setting in Brazil. Int J Tuberc Lung Dis. 2000;4(1):18-25.
 29. Malaspina A C. Estudo da epidemiologia molecular da tuberculose em pacientes de Araraquara-SP no período de 2000 a 2002 [tese]. Araraquara: UNESP; 2004.