

Perfil de micobactérias não tuberculosas isoladas em pacientes atendidos na rede municipal de saúde de Juiz de Fora – Minas Gerais (2015-2018)

Profile of isolates of non-tuberculous mycobacteria in patients treated in the municipal health network of Juiz de Fora - Minas Gerais (2015-2018)

Daniele Aparecida da Costa Silva¹; Isabel Cristina Gonçalves Leite²; Marcio Roberto Silva³; Cláudio José Augusto⁴; Luiz Henrique Castro Cunha⁵; Andressa Silvino Ferreira Assis⁶; Rodrigo De Martin⁷; Ronaldo Rodrigues da Costa^{8*}

RESUMO

Introdução: O gênero *Mycobacterium* é composto pelo complexo *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae* e as micobactérias não tuberculosas (MNT). Dentre as espécies de MNT, o complexo *Mycobacterium avium* (MAC) destaca-se como importante isolado em doença pulmonar e na forma disseminada em pacientes com vírus da imunodeficiência humana / síndrome da imunodeficiência adquirida (HIV/AIDS). O presente trabalho buscou verificar a ocorrência de MNT e a variabilidade das espécies isoladas na cidade de Juiz de Fora, assim como discutir a importância do diagnóstico laboratorial. **Métodos:** Foi realizado um levantamento no Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL) no período compreendido entre janeiro de 2015 e janeiro de 2018, de isolados de MNT emitidos no município de Juiz de Fora, Minas Gerais. Foi realizada a análise de dados como número de amostras, sítio de isolamento, baciloscopia para BAAR, sorologia para HIV e identificação das espécies. **Resultados:** vinte e dois (7,3%) pacientes tiveram cepas de MNT isoladas, com o predomínio nas amostras pulmonares. Estas contribuíram para o aumento da frequência por MNT. O MAC (40%) foi, dentre as espécies mais identificadas, associado a infecções pulmonares e em pacientes HIV positivo. E 36,4% dos casos tiveram critério microbiológico para confirmação do diagnóstico. **Conclusão:** O presente estudo verificou a prevalência de MNT em sítios de origem pulmonar. Em adição os dados mostraram que a confirmação do diagnóstico de micobacteriose depende de critérios microbiológicos e clínicos, ressaltando a importância da correta solicitação de culturas e a adequada identificação de micobactérias para uma intervenção terapêutica de sucesso.

Palavras-chave: Micobactérias não tuberculosas (MNT), complexo *Mycobacterium avium* (MAC), Micobacterioses pulmonar.

ABSTRACT

Introduction: The genus *Mycobacterium* is composed of the complex *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae* and non-tuberculous mycobacteria (NTM). Among MNT species, MAC is one of the most isolated pathogens in lung disease, disseminated form and patients with human immunodeficiency virus / acquired immunodeficiency syndrome (HIV / AIDS). The present study sought to verify the occurrence of NTM and the variability of the isolated species in the city of Juiz de Fora, as well as to show the importance of the laboratory diagnosis. **Methods:** A survey of MNT isolates issued in the city of Juiz de Fora, Minas Gerais, was carried out in the Laboratory Environment Manager (GAL) between January 2015 and January 2018, and data analysis as number of samples, isolation, smear microscopy for BAAR, HIV serology and identification of the species. **Results:** Twenty-two (7.3%) patients had MNT strains isolated with predominance in the pulmonary samples, and the cultures were more frequently performed, contributing to the increase in NTM frequency. MAC (40%) was among the most identified species associated with lung infections and in HIV positive patients. And 36.4% of the cases had microbiological criteria to confirm the diagnosis. **Conclusion:** The present study verified the prevalence of NTM in sites of pulmonary origin and the confirmation of the diagnosis of mycobacteriosis depends on microbiological and clinical criteria aligned the importance of requesting cultures and the identification of mycobacteria suitable for a correct therapeutic intervention.

Keywords: Non-tuberculous mycobacteria (NTM), *Mycobacterium avium* complex (MAC), Pulmonary mycobacterioses.

1. Farmacêutica. Residência em Análises Clínicas pela UFJF. Juiz de Fora, MG, Brasil.
2. Odontóloga. Doutora em Saúde Pública, Professora pesquisadora da UFJF, Bolsista de Produtividade em Pesquisa CNPq. UFJF. Juiz de Fora, MG - Brasil.
3. Médico Veterinário. Doutor em Saúde Pública, pesquisador da Embrapa Gado de Leite. Juiz de Fora, MG, Brasil.
4. Farmacêutico-bioquímico. Doutor em Ciências Aplicada à Saúde do Adulto. Fundação Ezequiel Dias, Instituto Otávio Magalhães, Belo Horizonte, MG - Brasil.
5. Farmacêutico-Bioquímico. Universidade Federal de Juiz de Fora, Hospital Universitário, Juiz de Fora, MG - Brasil.
6. Farmacêutica-bioquímica. Doutora em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, MG - Brasil.
7. Farmacêutico-Bioquímico. Mestre em Ciências da Saúde. Universidade Federal de Juiz de Fora, Hospital Universitário, Juiz de Fora, MG - Brasil.
8. Farmacêutico-bioquímico. Doutor em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Juiz de Fora. Pesquisador do Hospital Regional João Penido/HRJP. Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais/FHEMIG. Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

* **Autor correspondente:** Hospital Regional João Penido/FHEMIG e Hospital Universitário/UFJF, Juiz de Fora - MG - Brasil
E-mail: ronaldorodriguesdacosta5@gmail.com

INTRODUÇÃO

O gênero *Mycobacterium* é composto pelo complexo *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae* e as micobactérias ambientais, ou micobactérias não tuberculosas (MNT), que se distinguem dos agentes etiológicos responsáveis pela tuberculose e hanseníase. O aumento da incidência de MNT pode ser atribuída ao maior número de casos de infecções oportunistas que acompanham a imunossupressão, bem como pelas melhorias nos métodos microbiológicos para isolamento das micobactérias e avanços na identificação das espécies por meio de técnicas moleculares.^{1,2,3}

As MNT compreendem mais de 120 espécies e 11 subespécies. São classificadas como não patogênicas e potencialmente patogênicas e, fenotipicamente, pela produção de pigmentos e tempo de crescimento. As micobactérias de crescimento rápido são aquelas com menos de sete dias de incubação, e lento quando sete dias ou mais de incubação.^{2,4,5}

Essas micobactérias estão presentes em diversos ambientes, como solo, água natural e de sistemas de abastecimento, aerossóis, animais e humanos, sendo possível contaminar equipamentos médicos e ambiente.⁶ Há poucas evidências de uma transmissão direta animal / humana ou entre humanos, havendo possibilidade da infecção ser resultado de uma exposição ambiental. Embora a fonte não ser geralmente encontrada, acredita-se ser por ingestão de água, inalação de partículas ou aerossóis, ou inoculação através de equipamentos contaminados, sobretudo após procedimentos médicos invasivos.^{2,7}

O potencial de patogenicidade das espécies é variável, sendo importante considerar critérios diagnósticos a fim de descartar a contaminação e colonização.^{8,9} O diagnóstico da doença por MNT implica na presença de critérios clínicos compatível e alterações radiográficas, associados aos critérios microbiológicos.²

Podem causar infecção pulmonar ou extrapulmonar, principalmente em indivíduos susceptíveis ou imunossuprimidos, infecções de ferida cirúrgica, doenças de pele e de tecidos subcutâneos.^{1,10,11} Dentre as MNT patogênicas, destaca-se as do complexo *Mycobacterium avium* (MAC), composto por *M. avium*, *M. intracellulare* e *M. chimaera*, frequentemente isolado em doença pulmonar crônica e progressiva, doenças de forma disseminada e pacientes com o vírus da imunodeficiência humana / síndrome da imunodeficiência adquirida (HIV / SIDA), seguido de *Mycobacterium kansasii*.¹ Outras MNT de importância clínica são as *M. abscessus*,

M. fortuitum, *M. chelonae*, *M. szulgai* e *M. malmoeense*. Dentre as espécies não patogênicas, a *M. gordonae* é a mais isolada em comparação as *M. neoaurum*, *M. triviale* e *M. nonchromogenicum*.⁸

Como a terapia das infecções por MNT está relacionada com as espécies e requer uma complexa combinação alternativa de antibióticos em um período longo de duração, a identificação correta e ágil das micobacterioses é de extrema importância para adequar o esquema terapêutico de forma oportuna.^{1,3}

O presente trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de MNT e a variabilidade das espécies isoladas na cidade de Juiz de Fora, assim como discutir a importância do diagnóstico laboratorial.

MÉTODOS

Foi realizado um levantamento no Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL), no período de janeiro de 2015 a janeiro de 2018, de isolados de MNT obtidos em serviços de saúde pública do município de Juiz de Fora, Minas Gerais.

Previamente ao cultivo em meio Löwenstein-Jensen (LJ) ou Ogawa, exame microscópico foi realizado para verificação da presença de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR), utilizando a coloração de Ziehl-Neelsen. As amostras biológicas não estéreis passaram por processos de descontaminação, segundo técnica utilizada pelo Método de Petroff ou Ogawa, dependendo do espécime clínico processado. As culturas positivas foram encaminhadas para laboratórios especializados de referência e a identificação das espécies foi realizada utilizando método tradicional com uma série de testes bioquímicos e características fenotípicas. Se comparadas à cromatografia líquida de alta performance (HPLC - High Performance Liquid Chromatography) e técnicas moleculares, as metodologias tradicionais são mais simples e de baixo custo, porém são trabalhosas, complexas, com pouca reprodutibilidade e demoram mais tempo para chegarem ao resultado.²

Também foi realizado método molecular, rápido e preciso, baseado na análise de restrição enzimática do gene *hsp65* (PRA-*hsp65*), um gene encontrado em todas as espécies de micobactérias com sequências de nucleotídeos específicas para cada espécie. Apresenta mais variabilidade que o gene 16S rRNA e é útil para a identificação de espécies geneticamente relacionadas.²

Os dados obtidos foram número de amostras analisadas do mesmo paciente, sítio de isolamento e resultado da baciloscopia para BAAR e da identificação das espécies.

Foram recebidas uma ou mais amostras clínicas de sítios não-estéreis de um mesmo paciente. Os isolamentos foram obtidos de amostras pulmonares (escarro, lavado brônquico e fragmento de pulmão) e extrapulmonares como, pele (abscesso e fragmento) e urina.

Foi realizada análise dos prontuários dos pacientes que obtiveram resultados positivos para MNT nas culturas por meio de um sistema informatizado online, contendo dados referentes à clínica do paciente, como anamnese e evolução dos casos. Foram encontradas limitações, como ausência de dados clínicos de alguns pacientes devido a procedência do atendimento por unidades de saúde distintas. Quanto à busca pela sorologia do HIV, se procedeu com o auxílio de planilhas de notificação municipal de pacientes com a infecção pelo vírus. E foi realizada a análise estatística descritiva dos resultados de micobactérias.

Este estudo faz parte de um estudo maior “Desenvolvimento e avaliação de um novo método rápido, eficiente e de baixo custo de descontaminação e cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* em escarro e outros espécimes clínicos”, do Grupo de pesquisa cadastrado no CNPQ, “Doenças Infecciosas, parasitárias e zoonóticas” que foi aprovado pela Gerência de Ensino e Pesquisa da FHEMIG, sob o parecer de número 01/2014 e Comitê de ética da FHEMIG sob o parecer de número 816.628 de 02 de outubro de 2014.

RESULTADOS

No período entre janeiro de 2015 e janeiro de 2018, foram realizadas um total de 2148 culturas para micobactérias, dessas 378 foram positivas em 301 pacientes, sendo encaminhadas para análise e as espécies envolvidas caracterizadas. Dentre os analisados, 22 (7,3%) pacientes tiveram cepas de MNT isoladas e identificadas (Tabela 1). Dos 22 pacientes, 8 (36,4%) apresentaram cultura positiva em duas ou mais amostras para uma mesma espécie com resultados positivos de baciloscopias, seguindo o critério microbiológico para confirmação do

diagnóstico. Por outro lado, 9 (40,9%) dos pacientes, não foi possível verificar os resultados de baciloscopia ou se tiveram outras culturas positivas ou mesmo negativas (Tabela 2).

Dentre as espécies identificadas observa-se o isolamento predominante do MAC (40%), seguido de *M. goodii* (36%) e *M. duvalii* (8%). As demais espécies isoladas e identificadas (4%) apresentaram as mesmas frequências nas 25 culturas estudadas. E dentre as oito espécies, cinco são potencialmente patogênicas (MAC, *M. fortuitum*, *M. szulgai*, *M. abscessus subsp. bolletii* e *M. simae*) (Tabela 3).

Conforme o sítio de isolamento, demonstrou-se que as MNT isoladas foram predominantes em amostras de origem pulmonar (76%). Nas amostras extrapulmonares, as MNT estavam presentes em 5 culturas (20%) e apenas 1 (4%) teve o MAC associado a origem disseminada, sendo o paciente HIV positivo. E dos 22 pacientes analisados, 3 (13,6%) apresentaram sorologia positiva para HIV. Os resultados de sorologia para HIV mostraram que o MAC foi isolado nos 3 pacientes soropositivos, sendo que o óbito ocorreu em todos os casos analisados (Tabela 4).

DISCUSSÃO

Comparando um estudo conduzido em hospital regional de referência em tuberculose de Juiz de Fora.¹² no período entre 2008 e 2010 com o presente estudo, o isolamento e identificação de MNT apresentou, respectivamente, a taxa de 1,2% e 7,3%. Uma situação semelhante foi verificada em um estudo realizado em São Paulo.¹ que relatou um aumento significativo da ocorrência de MNT, com uma taxa média de 16,4%, nos últimos anos. Tal fato decorre da susceptibilidade do homem às infecções oportunistas, consequências de uma imunossupressão, fator que predispõe o desenvolvimento da doença, além do surgimento e aperfeiçoamento de novas tecnologias para caracterização microbiana mais rápida e específica.^{1,5,13}

TABELA 1. Relação de culturas positivas e isolados de MNT de pacientes atendidos na rede municipal de Juiz de Fora de 2015 - 2018

Culturas realizadas	Total (%)	Positivas (%)	Negativas (%)
	2148 (100,0)	378 (17,6)	1770 (82,4)
Pacientes/Culturas positivas	Total (%)	MNT (%)	CMT (%)
Espécies	301 (100,0)	22 (7,3)	279 (92,7)

MNT = Micobactéria não tuberculosa CMT = complexo *Mycobacterium tuberculosis*

TABELA 2. Relação de resultados positivos para culturas e baciloscopia com número de amostras

Baciloscopia / Culturas Positivas	Quantidade de amostras			Total (%)
	≥ 2 Amostras	1 Amostra	Outros*	
Pacientes (%)	8 (36,4)	5 (22,7)	9 (40,9)	22 (100,0)

*Pacientes sem registros de baciloscopia e outras culturas.

TABELA 3. Espécies de MNT identificadas nos materiais clínicos de pacientes atendidos na rede municipal de Juiz de Fora de 2015 – 2018

Micobactérias	Pulmonar*	Extrapulmonar**	Disseminada***	Total (%)
MAC	9	-	1	10 (40)
<i>M. gordonae</i>	5	4	-	9 (36)
<i>M. duvalii</i>	2	-	-	2 (8)
<i>M. fortuitum</i>	-	1	-	1 (4)
<i>M. szulgai</i>	1	-	-	1 (4)
<i>M. abscessus subsp. bolletii</i>	1	-	-	1 (4)
<i>M. simae</i>	1	-	-	1 (4)
Total (%)	19 (76,0)	5 (20,0)	1 (4,0)	25 (100,0)

MAC = complexo *Mycobacterium avium*.

*Um paciente com silicose;

**Urina, fragmento de pele, fragmento de tecido e abscesso de cabeça;

***Paciente HIV positivo.

Tabela 4. Espécies de MNT identificadas em relação aos pacientes HIV positivos e óbito

Micobactérias	Pacientes		Óbito		Total
	HIV+	HIV-	HIV+	HIV-	
MAC	3	7	3	-	10
<i>M. gordonae</i>	-	6	-	-	6
<i>M. duvalii</i>	-	2	-	-	2
<i>M. abscessus sups. Bolletii</i>	-	1	-	-	1
<i>M. fortuitum</i>	-	1	-	-	1
<i>M. szulgai</i>	-	1	-	-	1
<i>M. simae</i>	-	1	-	-	1
Total (%)	3 (13,6)	19 (86,4)			22 (100,0)

As culturas mais realizadas foram de amostras de sítios pulmonares, sendo esta a manifestação clínica mais comum nos adultos, contribuindo para o aumento da frequência de isolados por MNT, fato que foi demonstrado por estudos epidemiológicos.^{1,2,5}

Entre as amostras potencialmente patogênicas, o MAC, de crescimento lento, foi o mais identificado, sendo associado principalmente a infecções pulmonares

crônicas e doenças disseminadas em pacientes doentes com HIV. Visto a contribuição destes para o aumento das infecções por MNT, as micobacterioses é um dos critérios para diagnóstico da SIDA, como demonstrado por outros autores.^{2,11,13,14,15,16,17}

Barboza e colaboradores (2008),¹⁸ em estudo realizado no Brasil, mostram que casos de silicose aumentam as chances para uma micobacteriose. No presente estudo,

dentre os pacientes com sorologia negativa para o HIV, um apresentou isolamento por MAC na amostra pulmonar sendo associado a silicose.¹⁸ Tal situação confirma que dentre as doenças pulmonares crônicas, a pneumoconiose[#] facilita o desenvolvimento por MNT.^{2,18,19}

Visto que essas MNT geralmente não respondem aos esquemas de tratamento tradicional para tuberculose, a demora na identificação e no início da terapia correta pode levar o paciente ao óbito. E o isolamento do MAC na população HIV positiva, torna-se um prognóstico ruim à vulnerabilidade desses tipos de pacientes.^{13,14,17} Isso porque a terapia além de ser direcionada à micobacteriose, é também dependente do tratamento retroviral para redução da carga viral e aumento do número de linfócitos para manutenção da imunidade celular.⁷

A segunda maior ocorrência foi devido a *M. gordonae*, saprófita, que em pacientes imunocomprometidos pode ser a causa de micobacterioses cutâneas e pulmonares quando não relacionado a colonização transitória, o que recomenda um conjunto de uma boa anamnese clínica e coleta apropriada do material da cultura.¹⁰

De acordo com estudos apresentados por Souza (2012) e Lima (2014), as doenças extrapulmonares estão associadas às micobactérias de crescimento rápido, com prevalência do *M. abscessus* e *M. fortuitum*. Estes agentes são mais isolados de origem epidérmica e tecidos subcutâneos por meio de procedimentos cirúrgicos invasivos.^{13,20} O *M. fortuitum*, isolado tanto em pacientes imunocompetentes quanto imunocomprometidos, quando de origem pulmonar, pode ser indicativo de tuberculose pulmonar antiga, câncer de pulmão e doença pulmonar intersticial. Por ser uma espécie menos frequente no trato respiratório, normalmente indica colonização transitória, exceto em pacientes com doença gastroesofágica. Portanto, a conduta terapêutica depende das indicações diagnósticas e do histórico da doença.⁹

Quanto à identificação das espécies de MNT para a confirmação e o diagnóstico de micobacterioses, no estudo feito por Lima (2014),¹³ exige-se três ou mais amostras do sítio de infecção, para ter uma relevância clínica a fim de descartar a colonização transitória e contaminação. Já a Secretaria Estadual da Saúde de São Paulo (2005)⁴ apresenta sugestões clínicas de acordo com a patogenicidade da espécie e o número de isolados, considerando no mínimo duas amostras de origem não estéreis e uma de sítio estéril. Quanto as recomendações da *American Thoracic Society*.²¹ para um diagnóstico de micobacteriose pulmonar, têm-se a junção dos dados

microbiológicos, clínicos e radiográficos do tórax. Devem ser colhidas três ou mais amostras de expectoração para BAAR com o isolamento da mesma espécie em no mínimo duas amostras pulmonares com uma baciloscopia positiva, com identificação de micobactéria que não seja *M. tuberculosis* e *M. gordonae*. Ou uma amostra com um resultado positivo em pelo menos um lavado brônquico. Ainda, considera biópsia pulmonar que apresente características histopatológicas de micobactéria. No entanto, todos mostram a importância do isolamento da mesma espécie nas amostras biológicas.^{4,13,16,21}

Considerando amostras de sítio pulmonar, uma amostra positiva tem a probabilidade de não apresentar significância clínica, porém em certos casos a presença crônica de um micorganismo pode estar ou não causando infecção. O isolamento em uma amostra clínica pode estar relacionado à amostragem inadequada, dificuldade na integração clínica/laboratório ou à carga micobacteriana, que dificulta a identificação da espécie responsável pela doença.^{11,22}

A frequência das espécies isoladas no Brasil, de uma região para outra, é suscetível à variabilidade na incidência devido à escassez de registros oficiais mais fidedignos de MNT, por não ser doença de notificação compulsória. Além disso, deve-se considerar a apresentação de estudos que compreendem materiais clínicos, períodos e populações distintas, bem como a existência da variação na cobertura laboratorial.^{1,5,14}

CONCLUSÃO

O presente estudo verificou uma maior prevalência de isolamento de MNT em sítios de origem pulmonar, sendo mais frequentemente isolado o MAC, complexo que apresentou um impacto negativo nos pacientes portadores do HIV.

A confirmação do diagnóstico de micobacteriose de forma rápida depende de critérios microbiológicos e clínicos bem estabelecidos. Assim, o alinhamento desses aspectos ao acompanhamento do paciente, à importância da correta solicitação de culturas e à adequada identificação de micobactérias auxiliam numa intervenção terapêutica de sucesso.

Diante do exposto, considera-se oportuna a realização de mais estudos e a divulgação das informações a fim de atentar os profissionais para as MNT, contribuindo para a caracterização da doença, para o seu efetivo tratamento e controle.

[#] Pneumopatias relacionadas à inalação de poeiras em ambientes de trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Pedro HSP, Pereira MIF, Goloni MRA, Ueki SYM, Chimara E. Isolamento de micobactérias não-tuberculosas em São José do Rio Preto entre 1995 e 2005. *J Bras Pneumol*. 2008; 34(11):950-5.
2. Cerca PAR. Identificação de micobactérias não tuberculosas através de métodos moleculares não comerciais [teste de mestrado]. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa; 2010.
3. Senna SG, Marsico AG, Vieira GBO, Sobral LF, Suffys PN, Fonseca LS. Identificação de micobactérias não tuberculosas isoladas de sítios estéreis em pacientes em um hospital universitário na cidade do Rio de Janeiro. *J Bras Pneumol*. 2011; 37(4):521-6.
4. Secretaria Estadual da Saúde de São Paulo. *Micobacterioses: recomendações para o diagnóstico e tratamento*. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo: Centro de Vigilância Epidemiológica; 2005.
5. Ueki SYM, Martins MC, Telles MAS, Virgilio MC, Giampaglia CMS, Chimara E, et al. Micobactérias não tuberculosas: diversidade das espécies no estado de São Paulo. *J Bras Patol Med Lab*. 2005; 41(1):1-8.
6. Cabral DB, Andrade D. Micobactérias não tuberculosas em cirurgias: desafio passível de enfrentamento no Brasil? *Acta Paul Enferm*. 2011; 24(5):715-20.
7. Antunes A, Viveiros F, Carvalho A, Duarte R. Micobacterioses não tuberculosas: das manifestações clínicas ao tratamento. *Arq Med*. 2012; 26(1):25-30.
8. Sociedade Paulista de Pneumologia e Tisiologia. *Pneumol Paulista*. 2016; 29(1):77.
9. Okamori S, Asakura T, Nishimura T, Tamizu E, Ishii M, Yoshida M, Fukano H, et al. Natural history of *Mycobacterium fortuitum* pulmonary infection presenting with migratory infiltrates: a case report with microbiological analysis. *BMC Infect Dis*. 2018; 18(1):1-6.
10. Fontana RT. As micobactérias de crescimento rápido e a infecção hospitalar: um problema de saúde pública. *Rev Bras Enferm*. 2008; 61(3):371-6.
11. Zamarioli LA, Coelho AGV, Pereira CM, Nascimento ACC, Ueki SYM, Chimara E. Estudo descritivo da frequência de micobactérias não tuberculosas na Baixada Santista (SP). *J Bras Pneumol*. 2008; 34(8):590-4.
12. Costa RR, Silva MR, Rocha AS, Abi-Zaid KCF, Junior AAF, Souza DMK, Bonan PRF. Tuberculose: perfil epidemiológico em hospital referência no tratamento da doença. *Rev Med Minas Gerais*. 2014; 24(Supl 5):S57-S64.
13. Lima AS. Fatores e espécies de micobactérias não tuberculosas associadas aos casos de micobacterioses pulmonar e extrapulmonar no estado de Pernambuco [tese de doutorado]. Recife: Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz; 2014.
14. Barreto AMW, Campos CED. Micobactérias não tuberculosas no Brasil. *Bol Pneum Sanit*. 2000; 8(1):23-32.
15. Costa ARF, Lopes ML, Bahia JRC, Conceição EC, Lima KVB. Identificação genotípica de membros do complexo *Mycobacterium avium* isolados de infecções pulmonares no estado do Pará, Brasil. *Rev Pan-Amaz Saúde*. 2010; 1(3):35-42.
16. Prevots R, Shaw PA, Strickland D, Jackson LA, Raebel MA, Blosky MA, et al. Nontuberculous mycobacterial lung disease prevalence at four integrated health care delivery systems. *Am J Respir Crit Car Med*. 2010; 182:970-6.
17. Wildner LM, Nogueira CL, Souza BS, Senna SG, Silva RM, Bazzo ML. Micobactérias: epidemiologia e diagnóstico. *Rev Patol Tropical*. 2011; 40(3):207-29.
18. Barboza CEG, Winter DH, Seiscento M, Santos UP, Filho MT. Tuberculose e silicose: epidemiologia, diagnóstico e quimioprofilaxia. *J Bras Pneumol*. 2008; 34(11):959-66.
19. Marinho A, Fernandes G, Carvalho T, Pinheiro D, Gomes I. Micobactérias atípicas em doentes sem síndrome de imunodeficiência adquirida. *Rev Port Pneumol*. 2008; 15(3):323-37.
20. Souza AR. Tratamento com alta pressão hidrostática combinado com diferentes condições de temperatura e pH na inativação do *Mycobacterium abscessus* [dissertação de mestrado]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas – Unicamp; 2012.
21. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliot BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, et al. American Thoracic Society. An official ATS/IDSA statement: diagnosis treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Car Med*. 2007; 175(4).
22. Marras TK, Campitelli MA, Lu H, Chung H, Brode SK, Marchand-Austin A, et al. Pulmonary nontuberculous mycobacteria-associated deaths, Ontario, Canada, 2001-2013. *Emer Infect Dis*. 2017; 23(3):468-76.