

LABORATÓRIO DE TUBERCULOSE DO CRPHF QUINZE ANOS DE ATIVIDADES

Angela Maria Werneck Barreto¹, Fátima Moreira Martins²

Introdução

O Laboratório de Tuberculose do Centro de Referência Hélio Fraga (LTCRPHF) é referência nacional de apoio ao diagnóstico e controle da tuberculose da Coordenação do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública/MS/FUNASA/CENEPI (COLAB).

O Centro de Referência foi inaugurado em janeiro de 1986, mas o Laboratório de Tuberculose já desenvolvia suas atividades antes mesmo de estar assentado em suas dependências físicas. Em 1984 promoveu dois cursos macrorregionais em conjunto com o Instituto Adolfo Lutz em São Paulo e o Curso Nacional de Bacteriologia da Tuberculose em parceria com o Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Ainda nesse ano, como parte da estratégia de implantação do laboratório, foi firmada uma carta de intenções com a Unidade de Tuberculose e de Micobactérias do Instituto Pasteur de Paris, chefiada pelo Dr. Hugo Aires Lopes David. O objetivo foi o de subsidiar a estruturação técnica do laboratório, desenvolvida a partir de assessorias ao longo de quinze anos e do estágio do chefe do laboratório, naquele Instituto, para conhecer a rotina de um laboratório de referência.

Abaixo estão os objetivos definidos para o LTCRPHF:

- Manter intercâmbio técnico-científico com laboratórios de referência internacionais;
- Apoiar e promover eventos, tais como seminários, encontros e outros, visando a troca e a difusão de conhecimentos específicos na área de micobacteriologia;
- Programar e fornecer complementarmente, insumos (reagentes, meios de cultura) e produtos biológicos aos laboratórios regionais e estaduais;
- Assessorar e supervisionar as atividades dos laboratórios de referência regionais e estaduais;
- Desenvolver e participar de estudos de novas técnicas laboratoriais para o diagnóstico da tuberculose;
- Desenvolver sistema de controle de qualidade;
- Manter e fornecer coleção de cultura;
- Desenvolver atividades de acompanhamento do Programa Nacional de Controle da Tuberculose de acordo com a política e as diretrizes nacionais definidas pela Coordenação Nacional de Pneumologia Sanitária (CNPS);
- Participar, junto com a Coordenação de Laboratórios, da definição das atividades de apoio ao diagnóstico laboratorial e ao controle da tuberculose;
- Participar, junto com a Coordenação Geral do Programa Nacional de Controle de Doenças Sexualmente Transmissíveis/AIDS das atividades de apoio diagnóstico e controle da tuberculose em pacientes HIV positivo;
- Promover treinamento e desenvolvimento de recursos humanos;
- Elaborar plano de trabalho anual;
- Elaborar relatório de avaliação semestral e anual.

Os laboratórios centrais de saúde pública localizados nas capitais das Unidades Federadas são referência em seus estados e relacionam-se diretamente com o Laboratório Nacional, tendo este como sua referência. Baseado no fato de que havia uma carência de treinamento formal e regular dos técnicos destes laboratórios e sendo também uma das atividades primordiais de um laboratório de referência nacional, foram desenvolvidos nestes anos, cursos, estágios e assessorias, tendo como objetivo capacitar os profissionais, preferencialmente os do Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN) e de outras instituições públicas com atividades de diagnóstico da tuberculose.

Cursos, treinamentos e estágios

Através do Curso Nacional de Bacteriologia da Tuberculose / Hanseníase oferecido nos anos de 1984, 1986, 1987, 1988, 1990 e 1993 foram treinados os profissionais de nível superior, com ênfase para aqueles que já exerciam atividades nos LACENs. Acreditamos ser este o veículo integrador, por onde o Laboratório de Referência pode disseminar as propostas de trabalho. Outras modalidades incluíram cursos macrorregionais em baciloscopia, treinamentos em serviço e estágios no Laboratório de Referência. Este último é oferecido sempre quando o profissional precisa ser preparado para ser introduzido de imediato na rotina, sem ter que esperar pelo curso anual. Treinamos ao todo 255 técnicos, sendo que para a Região Sudeste coube a maior fatia, cerca de 36% de todo pessoal, seguida da Região Nordeste (29%).

Atividades implantadas e/ou implementadas

A resposta ao investimento no desenvolvimento de recursos humanos foi a melhoria na qualidade e na abrangência das atividades do diagnóstico no nível central. Basicamente, todos os LACENs das capitais contam com o recurso da cultura para o diagnóstico e 70% deles faz o teste de sensibilidade às drogas anti-tuberculose, com controle de qualidade. Este fato permite que estas unidades possam participar de estudos de resistência, de epidemiologia molecular e do sistema de vigilância epidemiológica da resistência. O estado que não tem este recurso recorre a outro próximo, ou à sua referência regional. Assim, para fins de apoio, os estados da Região Norte contam com o Pará (Instituto Evandro Chagas), o Piauí com o Ceará, Alagoas com Pernambuco, Sergipe com a Bahia, e Mato Grosso,

Tocantins e Rondônia com o Distrito Federal. E todos podem contar com o Laboratório Nacional de Referência.

Exemplo vitorioso desse intercâmbio foi a implementação, em regime de urgência, pelo Laboratório de Micobactérias do Instituto Evandro Chagas, no Estado do Pará, do antibiograma necessário ao estudo da resistência às drogas anti-tuberculose, em 1995/1996, trabalho que se realizou com o apoio da COLAB, da CNPS e do CRPHF. Observem na tabela 1 a distribuição das atividades.

Tabela 1 – Atividades implantadas e/ou implementadas

LACEN/OUTRO	BACILOSCOPIA	CULTURA	ANTIBIOGRAMA
ACRE	■	■	■
ALAGOAS	■	■	■
AMAPÁ	■	■	■
AMAZONAS	■	■	■
BAHIA	■	■	■
CEARÁ	■	■	■
DISTRITO FEDERAL	■	■	■
ESPÍRITO SANTO	■	■	■
GOIÁS	■	■	■
MATO GROSSO	■	■	■
MATO GROSSO DO SUL	■	■	■
MARANHÃO	■	■	■
MINAS GERAIS	■	■	■
PARÁ	■	■	■
PARAÍBA	■	■	■
PARANÁ	■	■	■
PERNAMBUCO	■	■	■
PIAÚÍ	■	■	■
RIO DE JANEIRO	■	■	■
RIO GRANDE DO NORTE	■	■	■
RIO GRANDE DO SUL	■	■	■
RONDONIA	■	■	■
RORAIMA	■	■	■
SANTA CATARINA	■	■	■
SÃO PAULO	■	■	■
SERGIPE	■	■	■
TOCANTINS	■	■	■
INSTITUTO EVANDRO CHAGAS	■	■	■

■ Atividades já implantadas anteriormente ■ Atividades implantadas e/ou implementadas
 ■ Atividades em implementação

Estudos e projetos com a rede

A melhoria na qualidade do diagnóstico propiciou ao LTCRPHF a oportunidade de participar de projetos de interesse nacional e internacional. O primeiro trabalho a ser implementado foi o “Estudo da Resistência Primária às Drogas anti-Tuberculose”, em colaboração com a Organização Panamericana de Saúde (OPAS), realizado entre 1986 e 1988, quase que simultaneamente com a “VI Experiência Nacional de Quimioterapia da Tuberculose”. Os demais projetos realizados estão discriminados a seguir:

- “Eficiência e tolerabilidade da rifabutina no tratamento de paciente com tuberculose pulmonar recentemente diagnosticada”.
- “Tuberculose pulmonar sem confirmação bacteriológica”
- “Estudo das micobacterioses no Brasil”.
- “Diagnóstico sorológico da tuberculose”.
- “Desenvolvimento de meio de transporte para espécimes clínicos em tuberculose”.
- “Avaliação prospectiva da definição de Caracas de caso clínico por infecção avançada pelo HIV em pacientes tuberculosos”.
- “Determinação da resistência primária no município do Rio de Janeiro”.
- “Custo-efetividade do tratamento supervisionado da tuberculose”.
- “Tratamento da Tuberculose Multirresistente”
- “Inquérito epidemiológico da resistência bacteriana às drogas usadas no tratamento da Tuberculose no Brasil”.

Nosso grande projeto para 1999/2000 é a “Implantação de um Sistema de Informação e de Controle de Qualidade em Baciloscopia da Tuberculose, no Brasil” que, informatizado, privilegia a informação uniforme, fidedigna, ágil e cimentadora definitiva da importância do laboratório no controle da tuberculose, e da baciloscopia com qualidade plena.

Outras instituições

Abaixo estão relacionados outros laboratórios e ou instituições que têm interagido com o LTCRPHF na busca de serviços e de controle de qualidade:

No Rio de Janeiro:

Hospital Municipal Miguel Couto
Hospital Adventista do Silvestre
Hospital Ary Parreiras-Niterói
Hospital Casa do Hemofílico
Hospital Central do Exército
Hospital de Traumatismo – Ortopedia
Hospital Estadual Santa Maria
Hospital Evandro Chagas/FIOCRUZ
Hospital Geral da Lagoa
Hospital Geral de Ipanema
Hospital Moncorvo Filho
Hospital Municipal Menino Jesus
Hospital Naval Marçílio Dias
Hospital Piedade/FGF
Hospital Raphael de Paula Souza
Hospital São Lucas
Hospital São Vicente de Paula
Hospital Servidores do Estado
Hospital Universitário Clementino Fraga / UFRJ
Hospital Universitário Gaffrée Guinle /UNIRI
Hospital Universitário Pedro Ernesto /UERJ
Instituto Estadual de Infectologia São Sebastião
Instituto Fernandes Figueira /FIOCRUZ
Instituto Nacional do Câncer
Prefeitura Municipal de Macaé
Sanatório Penal/DESIPE
Secretaria Municipal de Saúde de Angra dos Reis,
Araruama, Belfort Roxo, Miguel Pereira, Nova
Iguaçu, Petrópolis, Queimados, Rezende, Volta
Redonda, Barra do Piraí, Barra Mansa, Duque de
Caxias
Unidade Mista de Barra de São João
Hospital Universitário Antônio Pedro-Niterói

Em outros estados:

Centro de Saúde Cardoso Fontes-Amazonas
Centro de Saúde de Ilhéus-Bahia
Hospital das Clínicas de Porto Alegre/Rio Grande do
Sul
Hospital das Clínicas/UFMG /Minas Gerais
Hospital de Maracanaú / Ceará
Hospital Universitário Octávio Mangabeira / Bahia
Instituto Clemente Ferreira / São Paulo
Instituto de Patologia Tropical de Goiás
Instituto Evandro Chagas / Pará
Universidade Federal da Paraíba
Universidade Federal de Mato Grosso

Hospital Universitário / UFMA/Maranhão
Hospital Universitário de Montes Claros – Minas Gerais
Hospital Universitário João de Barros Barreto / UFPa/ Pará

Treinamentos e assessorias recebidas

O LTCRPHF e seus técnicos foram enriquecidos com as seguintes contribuições em treinamento e assessoria:

- Assessoria do Chefe da Unidade de Tuberculose e de Micobactérias do Instituto Pasteur de Paris, Dr. Hugo Aires Lopes David, para implantação e implementação das atividades do Laboratório de Referência nos anos de 1984, 1986, 1988, 1990 e 1995.
- Assessoria do Dr. Omar Latini, Chefe do Serviço de Tuberculose do Instituto Nacional de Tuberculose de Santa Fé, na Argentina, para implantação do Laboratório de Referência em 1984.
- Assessoria da Dra. Isabel de Kantor, Chefe do Serviço de Tuberculose do Instituto de Protección de Alimentos y Zoonosis, Argentina, para implantação da pesquisa: “Resistência Primária às Drogas anti-Tuberculose”, em 1984 e 1994.
- Estágio no Instituto Pasteur de Paris sobre “Organização e funcionamento de um laboratório de referência”, 1985.
- Participação no “Curso Internacional sobre el Diagnóstico en los Programas de Control y Erradicación de la Tuberculosis, Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis OPAS/OMS Buenos Aires, Argentina, 1993.
- Treinamento no método radiométrico utilizado para o diagnóstico rápido da tuberculose e para a determinação da sensibilidade do bacilo da tuberculose às drogas utilizadas no tratamento, CDC, Canadá, 1993.
- Participação no “Curso de Análises in vitro com radioisótopos para credenciamento junto à

Comissão Nacional de Energia Nuclear”, na Universidade Federal de Pernambuco, 1994.

- Assessoria do Dr. Omar Angel Latini/OPAS, com o objetivo de implantar um sistema de gerenciamento da Rede de Laboratórios de Saúde Pública, em 1995.
- Participação no “Curso de Gerenciamento de las Redes de Laboratorio en los Programas de Control de Tuberculosis, no Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis, Argentina, 1997.

Participação em eventos científicos

Citamos os de maior destaque:

- Reunião Anual da “Comissão Latinoamericana de Bacteriologia da Tuberculose”, Rio de Janeiro, 1984.
- Simpósio em Quimioterapia da Tuberculose, Rio de Janeiro, 1987.
- Congresso Internacional de Infectologia, Rio de Janeiro, 1988.
- I Simpósio Brasileiro em Micobactérias, Rio de Janeiro, 1988.
- Congresso Brasileiro de Pneumologia e Tisiologia, Curitiba, 1988.
- II Simpósio Brasileiro em Micobactérias, São Paulo, 1989.
- Joint Meeting of Lepra and Tuberculosis, Rio de Janeiro, 1989.
- III Simpósio Brasileiro em Micobactérias, Manaus, 1990.
- Jornada de Tuberculose, Rio de Janeiro, 1992.
- Congresso Brasileiro de Pneumologia e Tisiologia, Brasília, 1992.
- V Simpósio Brasileiro em Micobactérias, Santos, 1993.
- XXX Congresso Brasileiro de Medicina Tropical, Salvador, 1994.
- Congresso de Patologia Clínica, Rio de Janeiro, 1994.
- Reunião do Programa Q-TROP/FINEP, Rio de Janeiro, 1995.
- Annual Meeting of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, Paris, 1995.

- VI Simpósio Brasileiro em Micobactérias, Vitória 1995.
- V Congresso de Pneumologia e Tisiologia do Rio de Janeiro, 1995.
- I Encontro Nacional em Controle de Qualidade em Laboratórios de Saúde Pública, Curitiba, 1996.
- Encontro Nacional Sobre Pontos Polêmicos em Tuberculose, Brasília, 1997.
- VII Simpósio Brasileiro em Micobactérias, Rio de Janeiro, 1997.
- VIII Simpósio Brasileiro em Micobactérias, Salvador, 1999.

Material instrucional

A equipe do LTCRPHF elaborou e/ou participou, por vezes, em colaboração com outros técnicos, da preparação dos seguintes materiais instrucionais que, editados, foram distribuídos amplamente para a rede pública de serviços de saúde, bibliotecas e outras instituições brasileiras e estrangeiras:

- “Manual de Bacteriologia da Tuberculose”, 2ª edição, 1994.
- “Manual de Normas para Baciloscopia da Hanseníase”, 1989.
- “Manual de Normas para o Controle da Tuberculose”, 1995 – Revisão.
- Livro “Controle da Tuberculose. Uma Proposta de Integração Ensino-Serviço”. 1ª, 2ª e 3ª edições.
- “Manual de Baciloscopia da Tuberculose”, 1998.
- “Livro de Registro de Baciloscopia para o Diagnóstico e Controle da Tuberculose”, 1998.
- “Aplicativo para registro e análise de exames de baciloscopia, cultura e controle de qualidade da baciloscopia para a rede de laboratórios” - SILTB, 1999/2000.

Este aplicativo faz parte do sistema informatizado de informações para a rede de laboratórios e foi implantado em todos os LACENs juntamente com o

livro de registro de baciloscopia, em 1999, como parte de um grande projeto que se propõe a atingir toda unidade laboratorial que faça baciloscopia.

Produção de insumos

Desde 1990 desenvolvemos no setor de produção de insumos, a diluição da Tuberculina Bruta (50.000 UI), em PPD Rt-23 (2 UT) para distribuição em todo o Brasil, assim como o controle de qualidade “in vitro” e “in vivo”, através de ensaios clínicos necessários à liberação do produto para o consumo. Foram 12.501.300 doses. Na tabela 2 apresentamos este trabalho quantificado por ano.

Tabela 2 – Nove anos de produção de PPD Rt-23

Ano	Frascos com 50 doses
1990	28.225
1991	41.977
1992	31.156
1993	25.001
1994	21.570
1995	18.689
1996	29.090
1997	30.000
1998	24.318
TOTAL	250.026

Quanto à produção e fornecimento de meio de cultura e outros insumos, não é propósito nosso quantificar esta ação e sim qualificá-la. Nossa preocupação com a manutenção de bons níveis de serviços nos LACENs fez com que tivéssemos reservas estratégicas para que não faltassem os melhores reagentes e meios de cultura que assegurassem a qualidade do trabalho. Este fornecimento funcionou como alternativa para situações de emergência na rede.

Exames realizados (baciloscopia, cultura, identificação e/ou teste de sensibilidade)

O LTCRPHF realizou, nestes quinze anos, aproximadamente 18.000 exames especializados, com um pico observado em 1995, devido ao inquérito de resistência. Na seqüência, o número de exames manteve-se num patamar elevado por motivo da implantação nos estados do antibiograma pelo

método radiométrico, para orientação do tratamento dos pacientes multirresistentes.

Formação e manutenção da micobacterioteca

A micobacterioteca do LTCRPHF começou a ser formada em 1985, quando culturas de 54 micobactérias (amostras-tipo) de interesse ou não em patologia humana, foram trazidas do Instituto Pasteur de Paris. Por motivos diversos algumas espécies foram perdidas e outras estão sendo incorporadas

gradativamente, na medida em que novas espécies são identificadas. Estas culturas são repicadas a cada 4 anos e mantidas em freezer a -70°C . Temos fornecido amostras diversas a laboratórios de pesquisa para estudos e alguns trabalhos foram publicados em conjunto com estas instituições. Na tabela 3, apresentamos a atual formação de nossa micobacterioteca oficial e na tabela 4 as amostras que fomos identificando ao longo destes anos para os nossos parceiros.

Tabela 3 – Amostras - tipo

<i>M.vaccae</i>	ATCC 15.483	<i>M.tuberculosis H₃₇Rv</i>	ATCC 27.294
<i>M.aurum</i>	NCTC 10.437	<i>M.diernhoferi</i>	ATCC 19.340
<i>M.parafortuitum</i>	ATCC 19.687	<i>M.kansasii</i>	ATCC 12.478
<i>M.obuense</i>	ATCC 27.023	<i>M.marinum</i>	ATCC 927
<i>M.rhodesiae</i>	ATCC 27.024	<i>M.gordonae</i>	ATCC 14.470
<i>M.chubuense</i>	ATCC 27.278	<i>M.flavescens</i>	ATCC 14.474
<i>M.aichiense</i>	ATCC 27.280	<i>M.szulgai</i>	NCTC 10.831
<i>M.phlei</i>	ATCC 11.758	<i>M.avium-intracellulare</i>	ATCC 13.950
<i>M. smegmatis</i>	ATCC 19.420	<i>M.avium</i>	ATCC 25.291
<i>M.fallax</i>	ATCC 35.219	<i>M.triviale</i>	ATCC 23.292
<i>M.porcinum</i>	ATCC 33.776	<i>M.gastri</i>	ATCC 15.754
<i>M.duvalii</i>	NCTC 358	<i>M.xenopi</i>	ATCC 19.276
<i>M.gilvum</i>	NCTC 10.742	<i>M.fortuitum</i>	ATCC 6.841
<i>M.neoaurum</i>	ATCC 25.795	<i>M.fortuitum-peregrinum</i>	ATCC 14.467
<i>M.gadium</i>	ATCC 27.726	<i>M.chelonae-abcensus</i>	NCTC 946
<i>M.thermoresistibile</i>	ATCC 19.527	<i>M.simiae</i>	ATCC 25.275
<i>M.senegalense</i>	NCTC 10.956	<i>M.nonchromogenicum</i>	ATCC 19.530
<i>M.komossense</i>	ATCC 33.013	<i>M.asiaticum</i>	ATCC 25.276
<i>M.chelonae runyonii</i>	ATCC 14.472	<i>M.pulveris</i>	ATCC 33.501
<i>M.smiae habana</i>	ER 4238	<i>M.chitae</i>	ATCC 19627

Tabela 4 - Amostras recebidas, identificadas e mantidas pelo laboratório

<i>M. asiaticum</i>	03	<i>M. malmoense</i>	03
<i>M. avium-intracellulare</i>	323	<i>M. mucogenicum</i>	01
<i>M. bovis</i>	01	<i>M. marinum</i>	01
<i>M. bovis BCG</i>	02	<i>M. nonchromogenicum</i>	01
<i>M. chelonae abcensus</i>	90	<i>M. peregrinum</i>	19
<i>M. duvalii</i>	01	<i>M. terrae</i>	22
<i>M. flavescens</i>	20	<i>M. triviale</i>	02
<i>M. fortuitum</i>	126	<i>M. scrofulaceum</i>	125
<i>M. gastri</i>	01	<i>M. smegmatis</i>	01
<i>M. gordonae</i>	24	<i>M. szulgai</i>	08
<i>M. kansasii</i>	107	Não identificadas	87

Métodos e técnicas utilizados

Procedimentos diagnósticos	Técnicas clássicas	Técnicas rápidas	Em implementação
Baciloscopia	Método de Ziehl-Neelsen		
Descontaminação de Espécimes Clínicos	Método do lauril sulfato de sódio. Método do fosfato trissódico		
Isolamento de Micobactérias de Espécimes Respiratórios	Meio sólido Lowenstein Jensen	Meio líquido: sistema MB/BacT	
Isolamento de Micobactérias a Partir de Espécimes Paucibacilares	Sistema bifásico Lowenstein Jensen + meio líquido Middlebrook 7H9	Meio líquido: sistema MB/BacT e BACTEC 460 TB	
Identificação de Espécies Micobacterianas	Testes bioquímicos tradicionais	Sonda Genética	High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
Teste de Sensibilidade às Drogas	Método das proporções em meio Lowenstein Jensen	Método radiométrico: sistema BACTEC 460 TB	
Análise de DNA			Restriction fragment length polymorphism (RFLP)

Trabalhos publicados

Abaixo estão listados 56 trabalhos publicados ou apresentados em congressos no Brasil ou no exterior, entre 1986 e 1999 em que membros da equipe técnica do LTCRPHF são autores principais ou co-autores:

- MARTINS, F.M.; Barreto, A.M.W.; Gerhardt, G. Estudo da resistência primária em amostras de *M. tuberculosis* no Laboratório de Referência da Campanha Nacional Contra a Tuberculose a partir de 1986. *Jornal de Pneumologia*, 14 (Supl.1):141, 1988.
- BARRETO, A.M.W.; Martins, F.M.; Janarella, C.G. - Micobactérias atípicas isoladas no Laboratório de Referência da Campanha Nacional Contra a Tuberculose no período de 1986 - 1988. *Bol. CNCT 2 (2):26*, 1988.
- BARRETO, A.M.W.; Martins, F.M. - Estudo da resistência primária no Brasil no período de 1986 a 1988. *Bol. CNCT 2 (2):21-25*, 1988.
- BARRETO, A.M.W.; Martins, F.M. - Utilização da baciloscopia por concentração para diagnosticar casos de tuberculose pulmonar negativos ao exame direto do escarro. *Bol. Colabat*, 4, 1988.
- PALHANO JR, L.; Siqueira, M.P.; Barreto A.M.W.; Fonseca L.S.; Gontijo Fº., P.P. Biotyping of *M.tuberculosis* "Complex" Brazilian strains. Congresso Internacional de Infectologia, Rio de Janeiro, 1988.
- PALHANO JR., L.; Barreto, A.M.W.; Gontijo Fº. P.P. - Susceptibility of *M.tuberculosis* to pyrazinamide and its relationship to pyrazinamidase activity. Congresso Internacional de Infectologia, Rio de Janeiro, 1988.
- PALHANO JR., L.; Barreto, A.M.W.; Santos, D.R. - Influência da parede celular na resistência do *Mycobacterium tuberculosis* à isoniazida. I Simpósio Brasileiro em Micobactérias, Rio de Janeiro, 1988.
- CAMPOS, C.E.D; Figueira, I.; Barreto, A.M.W. Um caso de doença pulmonar causada por *M.fortuitum*. - II Simpósio Brasileiro em Micobactérias, São Paulo, 1989.
- PALHANO JR., L.; Fonseca, L.S.; Kritski, Barreto, A.M.W.; Gontijo Fº, P.P. - Atividade pirazinamidásica e suscetibilidade à pirazinamida (PZA) de *Mycobacterium tuberculosis* isolado de pacientes com tuberculose pulmonar recorrente ou virgens de tratamento. *Jornal de Pneumologia.*, 15 (2):79-81, 1989.

10. LEITE, S.R.A.; Falcão, D.P.; Barreto, A.M.W.; Ferrazoli, L.; David, H.; Leite, C.Q.F. Estudos dos ácidos micólicos das micobactérias isoladas em ambiente e de infecções humanas. IV Simpósio Brasileiro em Micobactérias, São Paulo, 1991.
11. NASCIMENTO, M.C.P.; Barreto, A.W.; Palaci, M.; Fonseca, L.S. Observações de plasmídeos em **M. avium-intracellulare-scrofulaceum** e **M. fortuitum**. IV Simpósio Brasileiro em Micobactérias, São Paulo, 1991.
12. FIGUEIRA, I.; Campos, C.E.D.; Garangau, F.M.; Barreto, A.M.W. - Importância da cultura do lavado gástrico, lavado brônquico e broncoaspirado no diagnóstico da tuberculose pulmonar. Bol.COLABAT.,6 (1):3, 1990.
13. BARRETO, A.M.W.; Martins, F.M.; Janarella, C.G. - Micobactérias atípicas isoladas de casos de tuberculose pulmonar. Bol. COLABAT. 6 (1):4, 1990.
14. BARRETO, A.M.W.; Martins, F.M.; Oliveira, G.G.; Silva, M.V.B. Micobactérias isoladas de espécimes clínicos de pacientes com sorologia positiva para HIV. Bol.COLABAT.,6 (1):6, 1990.
15. LEÃO, R.N.Q.; Lins, L.Z.; Lopes, M.L.; Werneck, A. Linfadenite cervical por **Mycobacterium fortuitum** - Um diagnóstico retrospectivo. VI Congresso de Infectologia, Salvador, 1991.
16. 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.; Scwentes, I.; Silva, A.A.; Souza, M.E.M.; Souza, M.J.; Vales, S.F. - Frequência da doença pulmonar crônica nos casos de micobacterioses ocorridos no Brasil no período de 1989 a 1991. Rev. Pneumol., 18 (Supl.2):119, 1992.
17. BARRETO, A.M.W.; Martins, F.M.; Campos, C.C.E.D.; Dalcolmo, M.M.P.; Oliveira, F.J.A. Resistência primária em pacientes com tuberculose, virgens de tratamento e soropositivos para o vírus de imunodeficiência adquirida. Jornal de Pneumologia,18 (Supl.2):111, 1992.
18. NATAL, S.; Bejgel, I.; Gerhardt, G.; Penna, M.L.F.; Barroso, E.F.; Azevedo, J.F.; Brandão, R.; Mazza, R.; Espina, C.; Pereira, A.; Lima, S.F.; Werneck, A.; Toledo, A.S.; Forastieri, N.; Sucupira, E.D. Fatores associados a falência do tratamento da tuberculose. Jornal de Pneumologia,18 (Supl.2):121, 1992.
19. FONSECA, L.S.; Saad, M.H.F.; Martins, F.M. The spectrum of immune response to *M. tuberculosis* in healthy individuals. Tubercle and Lung Disease, 73:242, 1992.
20. SUFFY, P.; Miranda, A.; Araujo, M.; Barreto, A.W.; Martins, F.; Degraive, W. - Use of molecular biological tools for diagnosis and epidemiology of tuberculosis and study of drug resistance mechanisms of *M.tuberculosis*. Resumos do "XVII Brasileiro de Microbiologia", São Paulo, 1993.
21. LEÃO, R.N.Q.; Lainson, Z.C.L.; Lopes, M.L.; Barreto, A.M.W. - Linfadenite cervical por **M.fortuitum** - Um novo caso em Belém do Pará. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 27 (Supl.1):221, 1994.
22. BARRETO, A.M.W. et al. Estudo das micobacterioses no Brasil: formas clínicas e espécimes mais encontradas. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 27 (Supl.1):42, 1994.
23. TOLEDO, A.S.; Barreto, A.M.W.; Vasconcellos G.; Ribeiro, S.N.; Gerhardt, G. Avaliação da resistência inicial às drogas anti-tuberculose no Rio de Janeiro. Pulmão (Supl.), 12, 1995
24. BARRETO, A.M.W.; Toledo, A.; Dias, S.; Ribeiro, S. N.; Gerhardt, G.- Resistência global e adquirida às drogas anti-tuberculosas no RJ - Um estudo transversal. Pulmão (Supl.), 12, 1995.
25. BARRETO, A.M.W.; Toledo, A.; Vasconcellos, G.; Campos, C.; Gerhardt, G.; Natal, S.; Oliveira, H.; Dias, S.; Aquino, S. Espirito Santo, S.-Global and acquired drug resistance in patients with pulmonary tuberculosis diagnosed during 1994 in Rio de Janeiro city. Tubercle and Lung Disease (Supl.2):99, 1995.

26. NATAL, S.; Barreto, A.M.W.; Lopes, R.; Lopes, L.; Campos, C.; Gerhardt, G. - Bacteriological status of outpatients, after relapse, with pulmonary tuberculosis treated with 2RHZ 4RH. *Tubercle and Lung Disease (Suppl.2)*, 88, 1995.
27. TOLEDO, A.; Barreto, A.M.W.; Vasconcellos, G.; Campos, C.; Natal, S.; Oliveira, H.; Dias, S.; Aquino, S.; Espírito Santo, S. - Initial drug resistance among pulmonary cases of tuberculosis in 1994 in Rio de Janeiro city. *Tubercle and Lung Disease (Suppl.2)*, 93, 1995.
28. DALCOLMO, M.; Motta, R.; Fortes, A.; Barreto, A.M.W.; Gerhardt, G. - Estudo Não controlado de tratamento da tuberculose resistente à múltiplas drogas (TB - MDR). *Pulmão*, 10, 1995.
29. BRAGA, J.U.; Barreto, A.M.W.; Hijjar, M.A. - Inquérito epidemiológico da resistência bacteriana às drogas usadas no tratamento da tuberculose no Brasil. Metodologia da pesquisa. Resumos do “VI Simpósio Brasileiro em Micobactérias”, ES, 1995.
30. CAMPOS, C.; Barreto, A.M.W. Utilização do cloreto de cetilpiridínio como agente conservante de escarro para o isolamento de micobactérias. Resumos do “VI Simpósio Brasileiro em Micobactérias”, ES, 1995.
31. CAMPOS, C.; Leite C.; Barreto, A.M.W. Isolamento de *M.tuberculosis* variante Húngara, no Brasil. Resumos do “VI Simpósio Brasileiro em Micobactérias”, ES, 1995.
32. ROCHA, A.S.; Veloso, G.V.; Grinztejn, B.; Barreto, A.M.W.; Fonseca, S.L.; Degrave, M.W.; Suffys, P.N. Identification of Brazilian strains of Mycobacteria through PCR and restriction enzyme analysis (PCR/REA): Application in clinical samples from HIV + Patients. Resumos do “VI Simpósio Brasileiro em Micobactérias”, ES, 1995.
33. SANTANA, R.; Vieira, F.; Campos, C.; Martins, F. Isolamento e identificação de micobactérias outras que não o bacilo da tuberculose (MOTT) em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) no Distrito Federal. Resumos do “VI Simpósio Brasileiro em Micobactérias”, ES, 1995.
34. NATAL, S.; Toledo, A.; Penna, M.L.F.; Barreto, A.M.W.; Vasconcellos, G.; Gerhardt, G. Primary and secondary drug resistance in pulmonary tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 1 (5) : S45, 1997.
35. CAMPOS, C.E.D.; Silva, M.V.B.; Silva, R.M.S.; Gouveia, S.S.; Barreto, A.M.W. Prevalência de micobactérias “não tuberculosas” em pacientes de ambulatório, com baciloscopia positiva, no período de 1995 a 1996, no Brasil - Resumos do XIX Congresso Brasileiro de Microbiologia, Rio de Janeiro, 1997.
36. BARRETO, A.M.W.; Braga, J.U.; Hijjar, M.A., Martins, F.M.; Gouveia, S.S. - Avaliação da qualidade dos testes de sensibilidade de *M. tuberculosis* durante um inquérito epidemiológico nacional. Resumos do XIX Congresso Brasileiro de Microbiologia, Rio de Janeiro, 1997.
37. ROCHA, A.S.; Barreto, A.M.W.; Campos, C.E.D.; Torres, H.M.; Leite, P.C.F.; Degrave, W.M.; Suffys, P.N. Identificação rápida de micobactérias através de PCR e digestão enzimática (PRA). Resumos do XIX Congresso Brasileiro de Microbiologia, Rio de Janeiro, 1997.
38. BRAGA, J.U.; Barreto, A.M.W. A tuberculose na Internet - *Bol. Pneum. Sanit.*, 5 (1): 6 - 29, 1997.
39. NATAL, S.; Toledo, A.; Martins, F.; Penna, M.L.F.; Vasconcellos, G.; Gerhardt, G. Results of tuberculosis treatment in drug-resistance patients. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 1 (5): S51, 1997.
40. SUFFYS, P.N.; Araujo, M.E.I.; Rosseti, M.L.; Zaha, A.; Barroso, E.W.; Barreto, A. M. W.; Campos, E.; Pereira, M.A.S.; Oelemann, M.C.; Degrave, W.M. - Molecular strains typing of brazilian strains of *Mycobacterium tuberculosis* and comparison with na international fingerprinting database. III International Workshop on Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases, Rio de Janeiro, p.35, 1998.
41. DALCOLMO, M.P.; Fortes, A.; Motta, R.M.; Barreto, A.M.W.; Gerhardt, G. Retrospective analysis of multidrug resistant tuberculosis (MDRTB) cases treatment. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 157(3), 1998.

42. De RIEMER, K.; Martins, F.M.; Barreto, A.M.W.; Braga, J.U. Resultados de um inquérito de laboratórios de micobacteriologia no município do Rio de Janeiro. *J.Pneumol.*,24 (Supl. 1):S 169, 1998.
43. ROCHA, A.S.; Torres, H.M.; Leite, C.C.; Barreto, A.M.W.; Campos, E.; Saad, M.H.; Fonseca A, L.; Degrave, W.M.; Suffys, P.N. Experience on the use of PCR- Restriction fragment length polymorphism analysis of the *hsp65* gene for rapid identification of mycobacteria. III International Workshop on Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases, Rio de Janeiro, 1998.
44. DE ARAUJO, M.E.I.; Fandinho, F.C.; Barreto, A.M.W.; Veloso, G.V.; Gristjen, B.; Lourenço, M.K.; Barroso, W.E.; Degrave, W.M. ; Suffys, P.N.– DNA fingerprinting of **Mycobacterium tuberculosis** from patients with and without AIDS in Rio de Janeiro. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 31 (3): 369-372, 1998.
45. DALCOLMO, M.P.; Fortes, A.; Melo, F.F.; Motta, R; Ide Netto, J.; Cardoso, N.; Andrade. M; Barreto, A.M.W.; Gerhardt, G. Estudo de efetividade de esquemas alternativos para o tratamento da tuberculose multiresistente no Brasil. *J. Pneumol.*, 25 (2):70-77, 1999.
46. GIACOMELLI, L.R.B.; Sespede, S.R.S.; Barreto, A.M.W.; Cardoso, C.L. Preliminary evaluation of survival of tubercle bacilli in heat-fixed sputum smears. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*,3 (Suppl. 1) S 109, 1999.
47. BRAGA, J.U.; Barreto, A.M.W.; Hijjar, M.A. Nationwide survey of tuberculosis drug resistance in Brazil. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*,3 (Suppl. 1) S 121, 1999.
48. DALCOLMO, M.P.; Fortes, A.; Seiscentos, M.; Cardoso N.; Andrade, M. e Barreto A.M.W. Patterns of multidrug resistance in Brazil. . *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*,3 (Suppl. 1) S 120, 1999.
49. BRAGA, J.U.; Barreto, A.M.W.; Hijjar, M.A. Nationwide survey of tuberculosis drug resistance in Brazil: validity and reliability of research measurements. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*,3 (Suppl. 1) S 165, 1999.
50. LOPES, M.L.; Nogueira, L.M.V.; Santana, Z.H.D.; Braga, J.U.; Barreto, A.M.W. Prevalenciada resistência do **M. tuberculosis** às drogas usadas no tratamento da tuberculose, Estado do Pará, Brasil. *Rev.Soc. Bras. Med. Trop.* 32 (Supl.1):403, 1999.
51. NEVES, M.M.C.; Martins, F.M.; Barreto, A.M.W. Avaliação da terceira amostra de escarro no diagnóstico da tuberculose pulmonar positiva. Resumos do XX Congresso Brasileiro de Microbiologia, Salvador, 1999.
52. CAMPOS, C.E.D.; Silva, M.V.B.; Medeiros, R.F.M. Avaliação da sonda genética para identificação de **M. kansasii**. Resumos do XX Congresso Brasileiro de Microbiologia, Salvador, 1999.
53. FREIXO, M.I.S.; Silva, M.G.; Barreto, A.M.W.; Ferreira, R.M.C.; Fonseca, L.S.; Saad, M.H.F. Avaliação do ETEST para teste de sensibilidade rápido do **Mycobacterium tuberculosis**. Resumos do XX Congresso Brasileiro de Microbiologia, Salvador, 1999.
54. OLIVEIRA, M.M.; Oeleman, M.A.C.; Barreto, A.M.W.; Rosseti, M.L.; Fonseca, L.S.; Vanderbirght, B.; Degrave, W.; Suffys, P.N. Detecção rápida de resistência contra rifampicina em cepas de **Mycobacterium tuberculosis** com Innolipa Rif Tb. Resumos do XX Congresso Brasileiro de Microbiologia, Salvador, 1999.
55. MARTINS, F.M.; Caldas, P.C. Barreto, A.M.W. Avaliação do antibiograma pelo método radiométrico para **M. tuberculosis**. Resumos do XX Congresso Brasileiro de Microbiologia, Salvador, 1999.
56. RIBEIRO, M.O; Martins, F.M.; Santos, L.M.; Borges, J.; Braga, J.U.; Silva, R.M.; Silva, M.V.B. Avaliação da qualidade dos antibiogramas para **M. tuberculosis** realizados na rotina do Laboratório Central do Rio Grande do Sul. Resumos do XX Congresso Brasileiro de Microbiologia, Salvador, 1999.

Conclusão

Ao longo destes quinze anos as atividades do LTCRPHF permitiram desenvolver estudos de interesse para o controle da tuberculose no país, e, na área específica da rede de laboratórios do setor público, o trabalho concentrou-se na capacitação de recursos humanos para a manutenção e desenvolvimento das unidades e na introdução e no aprimoramento das técnicas fundamentais para o diagnóstico bacteriológico da tuberculose, com qualidade.

As pesquisas realizadas em colaboração com estes laboratórios permitiram, além da geração de conhecimento específico, uma real integração com estas unidades.

Com o propósito de aprofundar e ampliar nossas relações e assegurar a atualização do conhecimento científico, enviamos técnicos de nível superior para cursos e estágios em laboratórios de referência internacionais. Por outro lado, abrimos nossa instituição à supervisão de laboratórios estrangeiros.

Finalmente, entendemos, de modo geral, que o trabalho destes quinze anos determinou a construção e consolidação das bases nas quais poderemos assentar os arrojados projetos com que esperamos oferecer nossa contribuição ao controle e posterior erradicação da tuberculose no Brasil.

Agradecimentos

Estes são os colegas que ajudaram e os que ainda continuam a construir este laboratório:
Carlos Eduardo Dias Campos, Carlos Gil Janarella, Clara Leda Gonçalves Menezes, Gilberto Gonçalves de Oliveira, Ilma Roseira de Carvalho, Joselba Borges de Melo Araujo, Leandro Navarro de Oliveira, Leda Maria dos Santos, Marina de Azevedo Barbosa, Mariza Vilas-Bôas da Silva, Paulo Cesar Ambrosio, Paulo Cesar de Souza Caldas, Reginalda Ferreira de Melo Medeiros, Vergínia dos Santos.