

ARTIGO DE REVISÃO/REVISION ARTICLE

Tuberculose. Perspectivas futuras*

Tuberculosis. Future perspectives

M.^a JOÃO MARQUES GOMES**

RESUMO

A tuberculose continua a grassar por todo o mundo e a sua incidência global tem aumentado 0,4% por ano. Existem em todo o mundo 2 biliões de infectados, 8,4 milhões de casos novos/ano e 16 milhões de doentes. São várias as causas apontadas para esta situação: a associação entre o VIH e a

ABSTRACT

Tuberculosis remains a major health problem around the world and its incidence is growing 0.4% each year. There are 2 billions of infected, 8.4 millions new cases every year and 16 million patients. The association of VIH and tuberculosis, the increasing number of multidrug resistance,

* Conferência proferida no XIX Congresso de Pneumologia, Funchal, 2003.

** Professora Associada Convidada da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa. Directora do Departamento de Pneumologia do Hospital de Pulido Valente, SA.

tuberculose, o aumento das multirresistências, a falência dos sistemas de saúde, as alterações políticas e económicas, a maior mobilidade das populações, as guerras, a pobreza e a exclusão social.

Procuram-se novos métodos de diagnóstico mais rápidos, mais específicos e mais sensíveis. Muitos recorrem a técnicas de biologia molecular, técnicas com radioisótopos e técnicas baseadas em alterações da cor e da fluorescência de corantes.

Pesquisam-se novos fármacos, novas formas de administração destes e de aumentar a adesão ao tratamento. Necessitam-se novos fármacos mais potentes, que permitam reduzir e simplificar o tratamento, mais eficazes sobre as formas resistentes e as latentes, com diferentes mecanismos de acção, biodisponibilidade favorável, farmacocinética favorável e poucos efeitos secundários.

Têm sido estudadas novas vacinas, nomeadamente: "Adjuvanted Subunits Vaccines", Vacinas DNA, vectores não micobacterianos, como a *Salmonella* que estão a ser testadas, e vacinas vivas atenuadas.

Termina-se tecendo algumas considerações gerais sobre a necessidade de conjugar esforços, para que no futuro as perspectivas sejam bem melhores do que as actuais.

REV PORT PNEUMOL 2004; X (2): 135-144

Palavras-chave: Tuberculose, epidemiologia, novos métodos de diagnóstico, novos tratamentos, novas vacinas.

failure of health systems, greater mobility of people, poverty, wars and social exclusion, are the major causes of the epidemiological situation.

Faster, more specific and sensible diagnostic methods are being investigated. Some of them use molecular biology techniques, some uses radioisotopes and some others are based on colour and fluorescence modifications of dyes.

New drugs, new routes of administration and ways for increasing compliance are under investigation. More potent drugs, with greater biodisponibility and adequate pharmacokinetics for shorter treatments for multidrug and latent forms of bacilli are needed.

New vaccines are under investigations, namely Adjuvant Subunits Vaccines, DNA Vaccines DNA, no micobacterianos vectors, and attenuated living vaccines are being tested.

Finally some considerations are made concerning the need of global commitment to win the fight against tuberculosis in the near future.

REV PORT PNEUMOL 2004; X (2): 135-144

Key-words: Tuberculosis, epidemiology, new diagnostic methods, new treatments, new vaccines.

Apesar de todo o progresso científico verificado ao longo do último século, a tuberculose continua a grassar por todo o mundo embora com claras diferenças entre os vários continentes e os diversos países. De acordo com dados da OMS, a incidência global da tuberculose tem aumentado 0,4% por ano, mas mais rapidamente na África subsariana e nos países da ex-URSS³⁵. Existem em todo o mundo 2

bilhões de infectados, 8,4 milhões de casos novos/ano, 16 milhões de doentes, 2 milhões de mortes por ano. As mortes por tuberculose correspondem a 7% de todas as mortes e a 26% das mortes evitáveis nos países em desenvolvimento^{9,28}.

O ano de 2002 foi o ano em que houve mais mortes por tuberculose, tendo morrido cerca de 2 milhões de pessoas. Anualmente ocorrem cerca

de 1,6 milhões de casos de tuberculose na África subsariana, 3 milhões no Sudeste Asiático e mais de um quarto de milhão na Europa Oriental.^{38, 39} De acordo com os dados publicados pela OMS, o número de casos novos notificados e de casos novos de doentes bacilíferos continua a aumentar, particularmente na África e na Ásia^{28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35}, assistindo-se a um decréscimo nos países da América do Norte e da Europa (Quadros I e II).

Esta situação levou Mário Ravaglione a afirmar: “Dez anos após uma declaração sem precedentes da OMS que considerava a situação da tuberculose no mundo uma emergência, a epidemia agravou-se, sobretudo devido à epidemia de VIH. Precisamos de aumentar os nossos esforços para enfrentar esta sinergia mortífera entre as duas doenças, cada uma das quais está a aumentar o impacto da outra”³⁹.

Quanto às estimativas para os próximos 20 anos, calcula-se que cerca de 1000 milhões de pessoas serão infectadas, mais de 150 milhões vão adoecer e 36 milhões irão morrer de tuberculose, se a luta

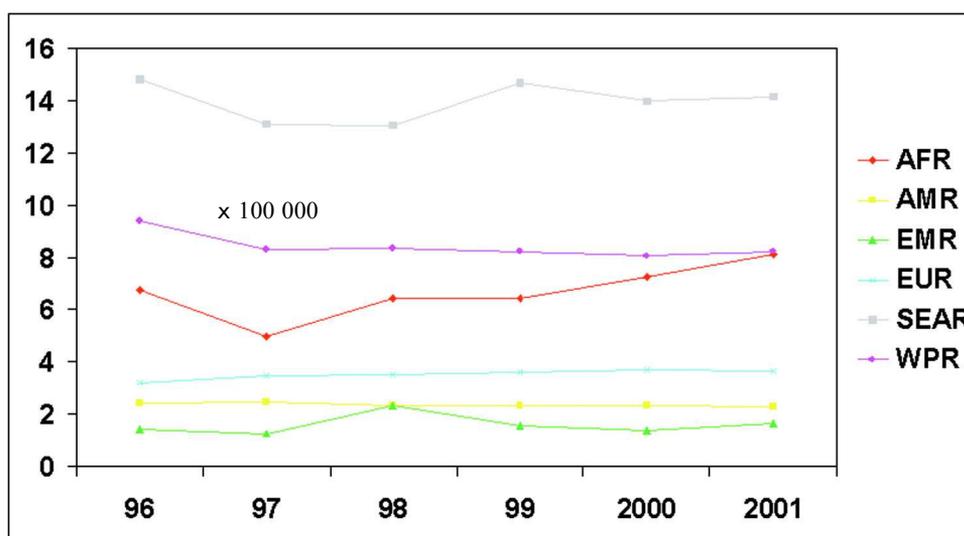
não for intensificada³⁸.

São várias as causas apontadas para esta situação. As mais importantes são factores epidemiológicos resultantes da associação entre o VIH e a tuberculose, sendo seropositivos para o vírus da imunodeficiência humana 8% dos doentes com tuberculose, e o aumento das multirresistências. Para além destes, a falência dos sistemas de saúde, as alterações políticas e económicas, a maior mobilidade das populações, as guerras, a pobreza e a exclusão social são factores responsáveis por esta situação^{5, 7}.

Ainda com base nas estimativas da OMS, em 2000, um terço dos 36,1 milhões infectados pelo VIH têm co-infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*, 70% dos co-infectados vivem na África subsariana, e a tuberculose é a causa de morte mais frequente relacionada com o VIH. A escalada da taxa de casos de tuberculose na última década na África subsariana é largamente atribuída à epidemia do VIH e a taxa de mortalidade aumentou de valores inferiores a 5% para superiores a 20% nos países mais afectados. Neste

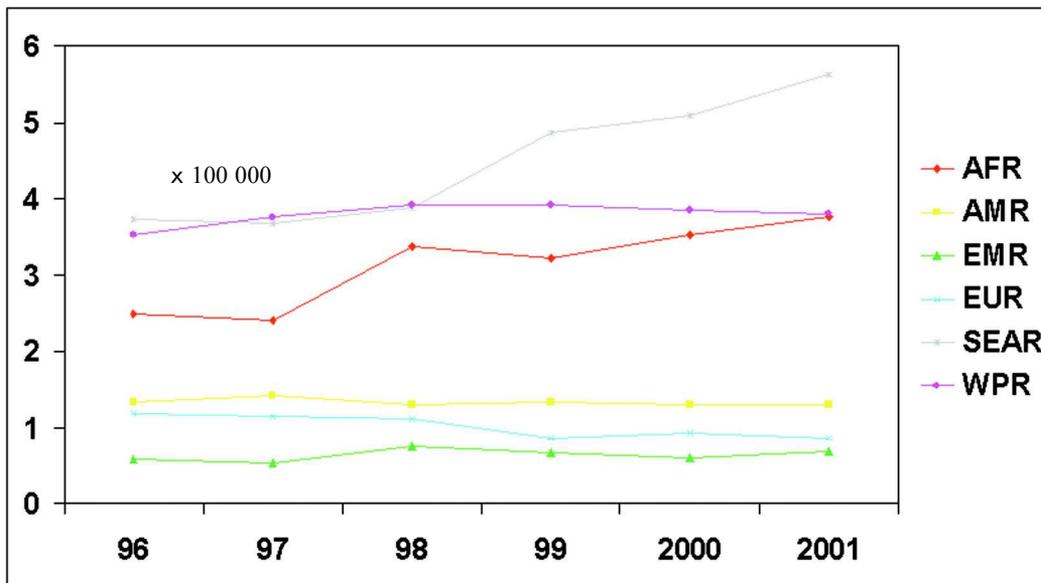
QUADRO I

Tuberculose no mundo. Número de casos novos notificados^{28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35}



QUADRO II

Tuberculose no mundo. Número de casos novos BK+,^{28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35}



continente, até 70% dos doentes com tuberculose pulmonar com baciloscopias positivas são seropositivos para o VIH e metade das pessoas que vivem com o VIH desenvolvem tuberculose³³.

É hoje ponto assente que a infecção pelo VIH agrava a epidemia de tuberculose: o VIH é o maior factor de risco para reactivação de uma infecção latente para doença activa e as pessoas infectadas pelo VIH e que se infectaram com o *Mycobacterium tuberculosis* evoluem rapidamente para uma tuberculose activa. A resposta imunológica do hospedeiro ao *Mycobacterium tuberculosis* aumenta a replicação do VIH e pode acelerar a progressão natural da infecção VIH, o que sugere um efeito adverso da tuberculose sobre o VIH^{15,23}.

No final dos anos 80 e 90 assistimos a um preocupante aumento da tuberculose multirresistente. No ano 2000 estima-se que 3,2% dos novos casos de tuberculose eram multirresistentes¹⁰. Farmer e col^{12, 13} classificaram esta

situação como uma pandemia mais mortífera que a infecção pelo VIH. A própria OMS entendeu necessário promover um estudo epidemiológico que envolveu grande número de países em todo o mundo e que veio permitir conhecer melhor esta situação^{11, 12, 13, 27}. Tratamentos incorrectos, má adesão ao tratamento e falta de organização dos serviços estão na base das resistências.

Face a este panorama, aumentou o interesse da comunidade científica pela investigação na área da tuberculose. São várias as insuficiências existentes na actualidade, como seja a demora do diagnóstico, a inexistência de novos fármacos – a Rifampicina data dos anos 60! – e a necessidade de vacinas mais eficazes do que o BCG, ela própria começada a ser usada em humanos em 1921! Actualmente procuram-se novos métodos de diagnóstico, mais rápidos, mais específicos e mais sensíveis, novos tratamentos mais eficazes, novas vacinas com maior capacidade de protecção.

Os **métodos de diagnóstico** até agora mais

usados, os exames directo, cultural e identificação não satisfazem as actuais necessidades de maior rapidez, simplicidade, sensibilidade e especificidade. Daí a procura de novos métodos de diagnóstico, alguns dos quais estão referidos no Quadro III. No entanto, embora estes métodos sejam muito mais rápidos, recorrem todos eles a técnicas de biologia molecular e muitos deles a radioisótopos. São técnicas complexas e dispendiosas que no momento actual não permitem a sua generalização, mas são uma importante mais-valia em laboratórios de investigação^{16, 40, 41}. Têm-se desenvolvido novas técnicas de diagnóstico baseadas nas alterações da cor e da fluorescência de corantes, alterações

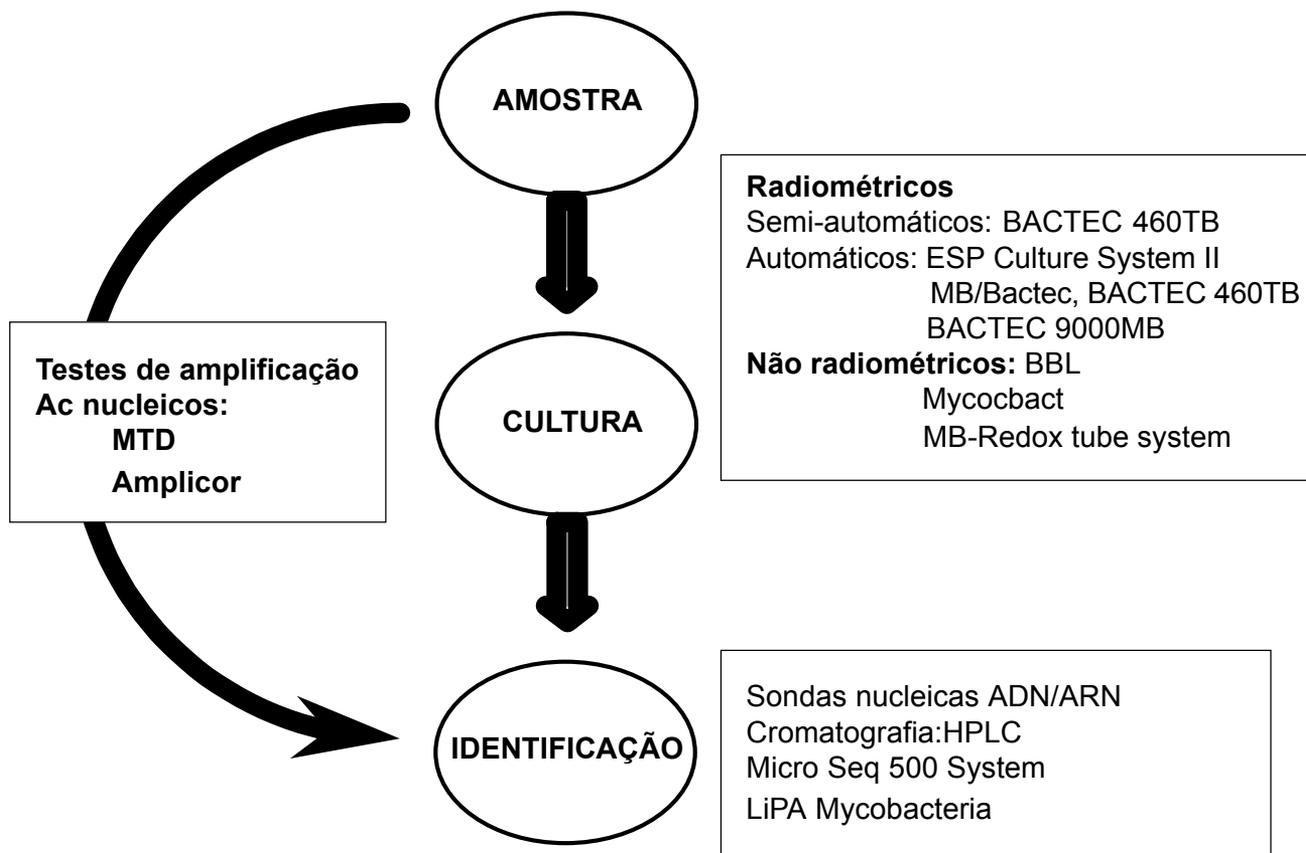
resultantes da libertação de dióxido de carbono ou de consumo de oxigénio pela replicação das micobactérias, métodos que têm a vantagem de não usarem isótopos²².

Também a procura de **novos tratamentos** tem sido alvo de intensa pesquisa: novos fármacos, novas formas de administração e de aumentar a adesão ao tratamento têm sido algumas das áreas de investigação^{1, 2, 3, 16, 19}.

A pesquisa de novos fármacos tem como objectivo a obtenção de fármacos mais potentes, que permitam reduzir e simplificar o tratamento, mais eficazes sobre as formas resistentes e as latentes, com diferentes mecanismos de acção, biodisponibilidade

QUADRO III

Novos métodos de diagnóstico da tuberculose



favorável, farmacocinética favorável e poucos efeitos secundários (Quadro IV).

No Quadro V estão assinalados alguns dos fármacos recentemente descritos como sendo potencialmente eficazes no tratamento da tuberculose^{1,2}.

Têm-se também procurado formas de aumentar a eficácia do tratamento, nomeadamente usando sistemas alternativos de libertação de fármacos. Estes poderão ser incorporados a polímeros bio-

degradáveis, permitindo a implantação subcutânea dos fármacos e a sua libertação lenta¹⁴; podem também ser libertados por lipossomas espaçando as administrações, aumentando assim a adesão ao tratamento ou administrados sob a forma de aerossóis. A imunomodulação pode ser outra das formas de aumentar a eficácia da medicação. A talidomida, a pentoxifilina, são capazes de reduzir a produção de factor alfa de necrose tumoral, factor com acção deletéria na tuberculose associada ao VIH^{25, 26}. No entanto, os efeitos secundários não têm permitido a sua aplicação na prática clínica. Já as citocinas “protectoras”, como o interferon-gama e a IL-2, têm mostrado alguma eficácia como adjuvantes no tratamento de doentes com formas multirresistentes^{6, 17}. Finalmente, a imunoterapia usando *Mycobacterium vaccae* mortas pelo calor não tem mostrado eficácia⁸ (Quadro VI).

A resposta ao tratamento não depende apenas dos fármacos, mas primordialmente da adesão ao tratamento, aspecto fulcral para o sucesso. A OMS considera a estratégia DOTS como essencial ao

QUADRO IV

Novos fármacos

- Mais potentes
- Permitam reduzir e simplificar o tratamento
- Mais eficazes sobre as formas resistentes e as latentes
- Com diferentes mecanismos de acção
- Biodisponibilidade favorável
- Farmacocinética favorável
- Poucos efeitos secundários

QUADRO V

Novos fármacos^{1,2}

- **Fluorquinolonas**
 - Ciprofloxacina, Ofloxacina, Levofloxacina, Sparfloxacina
 - Perfil farmacocinético favorável, excelente biodisponibilidade por via oral, as concentrações séricas atingem o pico muito abaixo das MIC
- **Oxazolidinonas**
 - PNU 100480
 - Eficácia dose-dependente, tão eficaz como a INH, activa em bacilos sensíveis e resistentes
- **Nitroimidazóis**
 - CGI 17341
 - Eficácia semelhante à INH e RFM, activa em bacilos sensíveis e resistentes
- **Tiolactomicinas**
 - Inibem a síntese dos ácidos gordos e dos ácidos micólicos, são eficazes nos bacilos resistentes à INH
- **Nitroimidazopyranos**
 - PA 824
 - Eficaz nas micobacterias multirresistentes nas fases activas e estáticas do *M. tuberculosis* e permitem reduzir o tempo de tratamento.
- **Inibidores da ligase do isocitrato**
 - Mais dirigidos às formas persistentes

QUADRO VI

Outras abordagens terapêuticas²**Intervenções para aumentar a eficácia do tratamento**

- Sistemas alternativos de libertação de fármacos
 - Libertados por liposomas
 - Aerossóis
- Imunomodulação
 - Talidomida, pentoxifilina
 - Citocinas “protectoras”
 - Moléculas anti-adesão (Anti-ICAM-1)
- Imunoterapia
 - *Mycobacterium vaccae* mortas pelo calor

êxito^{12, 13, 20, 21, 28}. O DOTS, tratamentos curtos sob observação directa, compreende 5 elementos: compromisso político, serviços de microscopia, fornecimento de fármacos, sistemas de vigilância e monitorização e uso de regimes altamente eficazes administrados em observação directa.

O DOTS-Plus tem como objectivo aumentar o acesso aos fármacos de 2.^a linha, mais dispendiosos, necessários aos programas de controlo da tuberculose estabelecidos pela OMS nos países de baixos e médios recursos.

Desde o início da implementação da estratégia DOTS em 1991, tem aumentado o número de países que a adoptaram. Desde 1995 cerca de 10 milhões de pessoas foram diagnosticadas e tratadas em programas DOTS. Em 2001 foram notificadas ao abrigo destes programas 2,4 milhões de novos casos de tuberculose, sendo metade bacilíferos. No entanto, estes doentes bacilíferos correspondem apenas a 32% da prevalência estimada. Apesar dos esforços desenvolvidos, esta estratégia não atingiu os objectivos previstos nos países de elevada prevalência. O sucesso terapêutico em 2000 foi de 82%, valor ligeiramente inferior aos 85% previstos, e estes valores foram mais baixos na África subsariana.³⁵

A OMS aponta para 6 causas para o insucesso do DOTS: dificuldades financeiras, recursos humanos, organização dos serviços de saúde, fornecimento de medicamentos, desconhecimento da população e falta de compromisso dos governos³⁵.

A **vacina** BCG é usada desde há mais de 80 anos e administrada anualmente a cerca de 104 milhões de crianças. É concensual que reduz a mortalidade por tuberculose e a meningite tuberculosa, mas a eficácia no adulto é variável⁴. Daí que nos últimos anos se tenham desenvolvido esforços no sentido de obter uma vacina mais eficaz^{4, 16, 24}, em grande parte devida ao desenvolvimento de novas técnicas de biologia molecular. Idealmente, uma vacina para a tuberculose deveria ser activa em pessoas já infectadas pelo *Mycobacterium tuberculosis* ou sensibilizadas pelo BCG ou pelas micobactérias do ambiente, impedindo a evolução para infecção pós-primária²⁴.

Têm sido testadas em animais mais de uma centena de vacinas. De uma forma geral têm sido estudadas ou estão em curso os seguintes tipos (Quadro VII):

- Vacinas subunitárias conjugadas. Várias formulações de proteínas, lípidos ou hidratos de carbono das micobactérias
- Vacinas DNA, fáceis de produzir e capazes de induzir uma resposta celular prolongada,
- Vectores não micobacterianos, como a *Salmonella* actualmente a serem testadas
- Vacinas vivas atenuadas — têm a vantagem de conter uma grande variedade de antigénios¹⁸

Os recentes avanços da genómica permitem perspectivar progressos nesta área, dado que permitem a rápida identificação e expressão de proteínas do *Mycobacterium tuberculosis* com potencial vacinal, a definição de antigénios específicos de espécie para fins de diagnóstico e a construção de vectores vivos para vacinação.

QUADRO VII

Novas vacinas¹⁸

- “Adjuvanted Subunits Vaccines”
- Vacinas DNA
- Vectores não micobacterianos
- Vacinas vivas atenuadas

O FUTURO

A situação actual é profundamente preocupante e, se olharmos para os últimos anos, vemos que não foram atingidos os objectivos propostos. No entanto, não se pode cruzar os braços e, a nível mundial, a WHO, o grupo G8 e o *Millenium Development Goals*^{36, 37} propõem-se unir esforços para de uma vez por todas vencer este flagelo. Para os próximos anos apontam os objectivos descritos no Quadro VIII. Mas não basta estabelecer metas, objectivos e delinear estratégias se delas não se passar à acção. Papel essencial têm os países desenvolvidos e detentores dos recursos no apoio

aos países menos desenvolvidos, mais atingidos e mais desprotegidos. Este é não só um problema de consciência mas uma obrigação moral dos países mais ricos.

BIBLIOGRAFIA

1. AGRAWAL S, THOMAS NS, DHANIKULA AB, KAUL CL, PANCHAGNULA R – Antituberculosis drugs and new drug development. *Curr Opin Pulm Med* 2001;7:142-147
2. ATS/CDC/IDSA: Treatment of Tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:603-662).
3. BASTIAN I, STAPLEDON R, COLEBUNDERS R. Current thinking on the management of tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 9(3):186-192
4. BLOOM BR, FINE BR – The BCG experience: implications for future vaccines against tuberculosis. In Blomm BR Ed. *Tuberculosis, Pathogenesis, Protection and Control*. Washington DC. ASM Press 1994:531-557
5. CEGIELSKI JP, CHIN D, ESPINAL MA e col – The global tuberculosis situation. Progress and problems in the 20th century, prospects for the 21st century. *Infectious Dis Clin North Am* 2002;16(1):1-58
6. CONDOS R, ROM WN, SCHLUGER NW – Treatment of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis with interferon-gama via aerosol. *Lancet* 1997;349:1513-1515
7. CORBETT EL, WATT CJ e col – The growing burden of tuberculosis. Global trends and Interactions with the HIV Epidemic. *Arch Intern Med* 2003;163:1009-1021

QUADRO VIII

Alvos mundiais para o controlo da tuberculose^{36, 37}

Objectivos para o futuro

- Alvos da Assembleia da OMS
 - Detectar 70% de casos bacilíferos
 - Tratar com sucesso 85% desses casos
- Alvos para 2010 do G8 em Okinawa
 - Diminuir em 50% as mortes por tuberculose
- Alvos para 2015 dos objectivos do desenvolvimento para o milénio
 - Parar e começar a reverter a incidência das doenças transmissíveis prioritárias, incluindo a tuberculose

8. DURBAN IMMUNOTHERAPY TRIAL GROUP – Immunotherapy with *Mycobacterium vaccae* in patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis: a randomized controlled trial. *Lancet* 1999; 354:116-119
9. DYE C, SCHEELE S, DOLIN P e col – Global burden of tuberculosis. Estimated incidence, prevalence and mortality by country. *JAMA* 1999;282(7):677-686
10. DYE C, WILLIAMS BC, ESPINAL MA, RAVIGLIONE MC – Erasing the World's slow-stain: strategies to beat multidrug-resistant tuberculosis. *Science* 2002;295:2042-2046
11. ESPINAL MA, LASZLO A, SIMONSEN L, BOULAHBAL F, KIM SJ, RENIERO A, HOFFNER S, RIEDER HL, BINKIN N, DYE C, WILLIAMS R, RAVIGLIONE MC – Global trends in resistance to antituberculosis drugs. World Health Organization-International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases Working Group on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance. *N Engl J Med* 2001;344:1294-1303
12. FARMER P, BAYONA J, BECERRA M, FURIN J, HENRY C, HIATT H e col – The dilemma of MDR-TB in the global era. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2:992-998
13. FARMER P, KIM JY, Community based approaches to the control of multidrug resistant (MDR) tuberculosis: introducing "DOTS-plus". *Br Med J* 1998;317:671-674
14. GANGADHARAM PR, GEETA N, HSU YY, WISE DL – Chemotherapy of tuberculosis in mice using simple implants of isoniazid and pyrazinamide. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999;43:1189-1191
15. GIRARDI E, RAVIGLIONE M, ANTONUCCI G, GODFREY-FAUSSETT P, IPPOLITO G – Impact of the HIV epidemic on the spread of other diseases: the case of tuberculosis. *AIDS* 2000;14(Suppl 3):S47-S56
16. GRANGE JM, ZUMLA A – Advances in the management of tuberculosis: clinical trials and beyond. *Curr Opin Pulm Med* 2000;6:193-197
17. JOHNSON B, BEKKER LG, RESS S, KAPLAN G – Recombinant IL-2 adjunctive therapy in multi-resistant tuberculosis. *Novartis Found Symp* 1998;217:99-106
18. LETVIN NL, BLOOM BR, HOFFMAN SL – Prospects for vaccines to protect against AIDS, Tuberculosis and Malaria. *JAMA* 2001;285(5):606-611;
19. MAARTENS G – Advances in adult pulmonary tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med* 2002;8:173-177
20. MAHLER D, MIKULENCAK M What is DOTS? A guide to understanding the WHO recommended TB control Strategy Known as DOTS. WHO/CDS/CPC/TB/99.270
21. NETTO EM, DYE C, RAVIGLIONE M – Progress in global tuberculosis control 1995-1996 with emphasis on 22 high-incidence countries. *Global Monitoring and Surveillance Project. Int J Tuberc Lung Dis* 1999;3:310-320
22. PIERSIMONI C, SCARPARO C, CICHERO P, PEZZO MD, COVELLI I, GESU G e col. Multicentre evaluation of the MB-Redox medium compared with radiometric BACTEC system, mycobacteria growth indicator tube (MGIT) and Lowenstein-Jensen medium for detection and recovery of acid-fast bacilli. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;34:293-299
23. RAVIGLIONE MC, HARRIS AD, MSISKA R, WILKINSON D, NUNN P. Tuberculosis and HIV: current status in Africa. *AIDS* 1997;11 (suppl):S115-123
24. ROOK GAW, SEAH G, USTIANOWSKI A – M tuberculosis: immunology and vaccination. *ERJ* 2001;17:537-557
25. TRAMONTANA JM, UTAIPAT U, MOLLOY A, AKARASEWI P, BURROUGHS M, MAKONKAW-KEYOON S, JOHNSON B, KLAUSNER JD, ROM W, KAPLAN G. Thalidomide treatment reduces tumor necrosis factor alpha production and enhances weight gain in patients with pulmonary tuberculosis. *Mol Med* 1995;1:384-397
26. WALLIS RS, NSUBUGA P, WHALEN C, MUGERWARD, OKWERA A, OETTE D, JACKSON JB, JOHNSON JL, ELLNER JJ – Pentoxifylline therapy in human immunodeficiency virus seropositive persons with tuberculosis: a randomized controlled trial. *J Infect Dis* 1996;174:727-733
27. WHO – Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Report No 2. Prevalence and trends. WHO/CDS/TB2000.278. Geneva Switzerland, 2000
28. WHO – Global DOTS expansion plan. Progress in TB control in high burden countries, 2001 WHO/CDS/STB/2001.11.2001
29. WHO – Global tuberculosis Control, WHO Report 1997. Geneva. Switzerland.
30. WHO – Global tuberculosis Control, WHO Report 1998. Geneva. Switzerland.
31. WHO – Global tuberculosis Control, WHO Report 1999. Geneva. Switzerland.
32. WHO – Global tuberculosis Control, WHO Report 2000. Geneva. Switzerland.
33. WHO – Global tuberculosis Control, WHO Report 2001. Geneva. Switzerland.
34. WHO – Global tuberculosis Control, WHO Report 2002. Geneva. Switzerland.
35. WHO – Global tuberculosis Control, WHO Report 2003. Geneva. Switzerland.
36. WHO – Report of the ad hoc committee on the tuberculosis epidemic, London, 17-19 March. Geneva Switzerland. 1998
37. WHO – Report on the meeting of the second ad hoc Committee on the TB epidemic. Recommendations to stop

- TB partners. WHO/HTM/STB/2004
38. WHO.who.int/mediacentre/factsheets/who104/en
 39. WOODS GL – The mycobacteriology laboratory and new diagnostic techniques. *Infectious Dis Clin North America* 16(1):127-143;2002
 40. ZHENG X, ROBERTS GD – Diagnosis and susceptibility testing. In *Tuberculosis and nontuberculous mycobacterial infections*. 4th edition. Editor David Schlossberg. WB Saunders Company. Philadelphia. 1999.