I'ORT II (6): 393-401

ARTIGO ORIGINAL

Epidemiologia molecular de estirpes de Mycobacterium tuberculosis isoladas em Lisboa: preliminar

de urn genotipo unico em Portugal

ISABEL PORTUGAL •

Com visto R "'"" importlincio da da ruberculosc na portuguesn, 11nnlisaram-.c us de de DNA isotallo de esnrpes de MycobacJerillm tuhi!rrulosis.
eslirpes euas oriuudas de dui• UosplralJ de Lisboa, pais ondea ruberculosc e todewiCL 0 ll'IA dt ISS estirpes de Mycohoi::tl!ri-um ruberrulosls isoladas de 147 dllt'nles durante os auos de 1992 e 19'13 (iorlutndo 27 cstirtJCS isuladas tm Cablnda, Angolll, dunonle o mesmo perlooo), foi submctillu a analf<t por Rtstricliou
U nglh r•otyo•o•·phfsm" (RFLP), u<antlo a de
IS61 10 cumo sonda. ldentilitlimos tOft J><rfis distlntos, c 30 estirpes roram em grupos de pclo numns 2 estfrpes i$tUA.is. t:m dcstes grup11<, cujns esttrpcs oprcsenUlr-.am 9 bondas em locais particular"", serum gcnotipo unict> portng11H.

Pnla\'ras RJ·LP

t.'1encias (•tutw u.nAhscs
Lo\boraulml •leo M11,:rub10Jogta Molecular
(Coordenadar Ouutw- Jc,r MOG.it Pcrchaj
hNdadc ck Fann.leo> do U.UYa51dock ck UW..
A .. ·. Armtdu
1600 LJSIIOA

Jlecebido 11ara publiCO\'iU 96.11.22

t\O\Cmbro!Ue:zcmhm I QQ6 3?3

"REVIS I'A I•ORTl:GVESA DE P:-IEUMOLOGIA

ABSTRACT

We conducted a DNA llngerprinttog analysts of Myco/Jactfrlw" tubtrt'uloslsstralns 1n Us bon, Portugal a country In wtcb tubcrculosiJ is endunlc In order to evaluatt the importanu nf microepiMml<& In the maintenance of tbe "'ithin the pnpul:atioo. The polymor1•hhirn of ISS strains or ltlyaJbuctl!riunt tubl!rculm;it
from 147 patients durutg l ?92 and 1993 (including 27 strains cullcctc•l from Cab.inda, Angola, during tbe some period) were subjected to rcstrlcllon fragment polymorphism (RFLP) analysis, using the Insertion sequence 156110 as a probe. 108 diffcreotiS61 10 RFLP types were identiftd, and 30 stnlins were in dust<rs. by computer-assisted analysts of D:-<A tiogcrprints. One of this ctn•trr<, prMentiog 9 bands In a particular place, seems to be a portuguese Mine:te gennfy(lt'.

Key words: ,\{}wbucterinm RFLP

INTROOUC,:.i.O

A pelo bactlo dn rubcrculosc cncoutra-":
muito disscmmada. calculando-se que cerco ell! 113 dn
populavao mundial se encontra infectndn, ou seJn, cere• ''" 1.7 biliocs de pcssoas (1.2). ;\nualmcntc. nproximodarucnk R-1 0 nrilhocs desenvolve.nlo uma tuberculose eli mea. sendo o risco calcui>Jtlu de 1-1 Oi I I 0 000 mdtvfduos mfecrodos. Nos doentC'I infCCIJlck>< pelo rnv, o risco de rubcrculose aumenta drnmatica-mcnJc pam valores da ordem de 20-JOilOO. constiruin-do """' de ulto risc.o para o tubercu-lose. Tanto o risco de nos infectados pelo IUV. como o alto nS(:O de rubcrculosc uh-.:rvudo 1105 HIV-posirivos quando expostos ao bacilo 1.la llrhcrur-losc, tern contribuido para umn expansao acclcr'lularl• ruberculuse ri esca Ia mundial (3,4). Consmw-sc tam-bern um rccrudcscilllenlo rcsistencia aos nntibioti-c.os e sua transrnissii11 """'las sendo prcocupante a possibihdnde deste problema,..;
der 8 pupula.,-:ao niio rnv.
Surge nssim a necessidade de se desenvolvcrern esrudos eptdemiologicos de fonna a contribuir para urn controlo eficaz da disscrninao;iio da tuberculose, particulannente dns aos antibi6tioos. 0 uso de marcadores gcn61icos para a Lip• gem de Mycobacterium tuhen:ulnsis tern provado

3'14 Vol. II N• 6

ser de grande valor I)DI'll n da cpi• i<:rrr inlngiH dtr luberculose. UmQ da.' t&:nicns mais rcccntcmcn-te. LP (Restncuon rrngment Lenght Polymurp-htsm) tecmca que l'<! hnl'<!ta na de ONA g.cniuuicu cum a cmlunuch;a:,.c Pvull, gcr:mdo frag.· mentos pohm6tticos resultantes dn inser930 da IS611 0 (5,6,7) no cromossoma boclerinno. cstn sequencia de pertencente 6 familia IS3 de elementos de inscl\'ilo de eoterobacterias. est:i prescnte apenas no complcxo Mycobactenum tuberculosis: tern stdo utilizad• como sonda para a diferencia<;-fto
de umn vc; t{IIC s:c cm.:vnlr¥1 ern nltmero variado de c6pias. e integra em dilcrcutc' lucais do cromossoma. Obtem-se assim. perfis de ONA all>t-mentc polim6rficos. mas relativ3l11ente stmples e possivci; de serem analisados e comparndos por cor nrutudor. Consegue-se assim, segui•· n n-ansmiss<io entre p01)ulao;oes urrr11 vc1 'I"" pedis id6nticos corres .pondem a uma tome de conuuninnvau curnum. >lesre migo. apresentamos os resuhadru; de urn cstudo ern que sc aplica 11 tecnica de RJILI' 3 esrirpes oriundaq de dnis hospi111is de Lisboa e um de Cabinda, Angola. A llos pertis obtillos num total de 155 esmpes de M. tulwrt'UirA<i.< iwlmlao a partir de doentes extemos ou ooo destes hospitai8, corn ou sem HlV. pcnnite porum lado, obterumn visi!o epidcmio-16gicn rcalidadc em e por outJ'O, uma

1996

MOLECULAR DE ESTIRPES DE MYCOI:IACTElRlUM 11JBERCULOSIS ISOLADAS EM LISBOA: DllSCRlcAO PRELIMJ:-IAR DE UM 00:6TIPO UNICO EM PORTU()AL

abordagem e por conseguinte, comparac;iin cnm os perfis obtidos em Cabi11dn.

MATERIAL E M"RTO»OS

Elstirpes de Tsolaram-se 155
cstirpes de M. tuberculosis n pnl'tir de 147 docntes. HTV posilivos e negativos, alguns com muhipllls resislc.,eias aos antibi6ricos, durante os rulM de 1993 c 1994. Dcsl:os, 57 (correspondendo a 54 docntc,, 3 doentcs com 2 amoslras) foram de docntcs internos c cxlcmos do llospital Pulido Vnlente de Lisboa (16.8%), 71 (correspondendo a 70 I doente cnm 2 amostrns) do I lospital Militar de Helem, Ltsboa (45.!1%), c 27 (com:spondendo a 23 doentes, I doenre com 3 c 2 com 2 amostms) de
trabalhadores e seus "Cabimla Gulf Oil
Company". intemos e extemns cia Clinica da empresa em Cabinda, Angola (17 .4%).
Eslcs doenres nao possutnm qualqu<-T lipo de rclacionat'ncnto·epidemiol6g1co conhecido.
As 155 amostras foram isoladas ft partir expec-(87 runostras), hquido broocoalveolar (35 nmostra.s), liltuido pleural (19 urina (I amostm), gastrico (8 amostras) e snngue (5 amostrns).
e do DNA
no. As bacterias foram tsolndas em de

Lowerutcin·Jensen. a 3rC, durante 3 a 4 &cmanas. Pam do DNA. transfenu-se umn ama de

cultura partt J•m Lubo contendo 250)ll de uma solu9iio
de TE/spcnmsc a ·25% esferas 'de v.idm.
Agitou·se vtgorosrunentc c incubou-se durante I 0 min a 850C. Posterionnente adlctonnu-l>'C lisozima a uma final de 500 IA3"ml e lncubon-sc 15 min
a 37"C.Juntou·se250 iJ(de1,1ma soluc;ao
nlrura) de Tris !oOmM (pl18.0}, K 400 Jlg/ml e SDS a I %. Incubou·se a s.s•c durnme 30 min. Adictonou-sc I 00 JU de NaCI 5M e firullmentc procedeu-se a c(lm fenoVclorof6nnto (2-3 vezes), prccipi'tou-se o DNA com etanol absoluto e o precipitado com cmn01 a 70\ Dclxou-se

Nov.:mbrnllle>embro 1996

secar o prccipitado e em 30)ll de TE (pll8.0).

e da sondo de DNA. A

sonda utili?.ada, urn fragmento de 245-bp da 186110, fat obnda por PCR, ul)llndo os primers especlficos e INS-2 (x), a partir de DNA t'romossomal de
M. bov/s UCG, devldamcme p·urilicndo. A sonda foi marcada radioacttvamcntc cnm 32P. lgualmente se marcou uma sooda COITtllpondentc aos fTiltrcadores de molecu1ares, Supcrcotled DNA lnddcr-PvuU e
Phi X 174-Hadll (os pesos moleculares destes Clois marcatlt.m:.s vao desde 16.2 a 0.603 Kb)(< iihco BRL).

Analise por RFLP. Oigcrimrn-:.c J Jig de cada amostra de UNA crnmoq,ornal com a enzima Pvull Biolabs) duran1c.2 37''C, de acordo
wm us do Num gel de
agt•rosc a 0.8%, as amu!'ltrus. cis quais prcvi11mcnte se juntou. como marcadnll!' intcmos, os m:uclllluccs de pesos molecular.:-s, wnn de Supctcoilcd DNA ladder-1'\'Ull e PhtX 174-Haclll. mnrcadores de pc.sos moleculares sc1vcm para fncilitnr a atraves de computndor, do peso de cada frngmcnto obtido por IU'LI'. Naq extre-mtdllde<t do gel colocou·se a estirpe de rclcrencia M tuberculosis 14323 (9) como controlc. Procedeu-se it electmtoresc por I 0 min a 3.2 V/cm, bmxou-sc " voltagcm para 0.8 V/cm e electroforou-se
cet'Cll de I Xh. T ransfcnu-se o DNA para uma membra-na de nylon Hybond-X• (AnJCrsham), e hibridou-se cum a sonda IS6110 (245-bp) de acordo com as ins.truvocs d() fabricante. A memhnllla foi posterior· mcntc deshibridada c hibridndn com '' dos

marcudorcs. As auto-rndiografias foram ohtida.s por da membrana a urn filme de raio-X (Hyper-
. film, ECL: Amen,hnm).
. As com os perfis obtidos com a sonda IS6 I 10 foram snhrcpostos com as correspou-dentes autorradlogratio.q com os pcrfis dos marcado-rcs, c foram num computador poe run SCHnn<-T (ljP ScanJetllcX). A analise c(lmpanttiva dos d.C .DNA foi realizad!l utilizandtl o. software GeJGompm·, versiio 3. I (Applied Matl1s, Belgica).

Vol. ll N• 6

REVIS1'A PORTUGUESA DE PNEUMOL.OGIA

RESULTADOS .1!: OISC{fSSAO

Numcro de cc\plos de fS6110. 0 n{tmero de c6pios de IS611 0 foi determinado a partir do ni•mero de bandas que hibridou com a sonda espccHic•. 0 numero de bandas obtido pur RFLP variou entre 2 c 20, correspo11dendo a igual ni1mcrn de eopias de IS6110(Fig. 1). A maioria, 119de 147
aprcscntou H a 17 o que estti de acordo com as
6 a 15 c6p1as relatadas para isolados africanos e euflipeus (10). Nenhuma estirpe apre.sentou apenas uma c6pia, como descrito para outras populavocs (11.12) e apenas 4 isolados (2.7%) apn"cnlmarn 2" 5 copias de TS61 I 0.

?0
lij
16

"' 14

12
10

., .. 8

z 6
•

2
0
"' .... "

Nlio se encontmu qualquer entre o facto do doente ser HIV positivo e a susceptibilidade aos diterentes amibi6ticos.
Uas 147 estirpes isoladas do mesmo numero de doentes, 28 foram isoladas de do.entes IIIV positivos. dos perfis de RFL.l'. Das 124
estirpes isoladas em Lisboa, encontraram-se I 08 perfis distintos (87%) e oas 23 cslirpcs de Cabinda. 21 pedis foram diferenles (91 %). No cnlaralv, muiras cslir[lCS <:om pcrfis clc RFI.P dili;rculcs apreseularam bandas cnniWlS. Na analise realizada em computador para delenninar as sinularidades (l'ig. 2), observou-se grande diversidade de pertis entre os ISolados, apre-senrondo no entanto, um nivel relativamenre alto de

N., de c;;Opias de IS
Fig. 1- Niun<ro de copiu' do ISS6J 10 "'" 147 osLirpo::; <l< Mycobttl'lt'l ium lubt·n:u/osi:.·

a antlblc\ticos. Dos 14 7 1solados corrcspondl.'Tldo a 147 doentes diferemes, 72 isolados (49%) forom tcstados quanlo H susceptibilidade freme
aos antibi6ticos convencionais 111is como isoninida. ri.fampicina, estreptomicina, pirazinamida e etamhuiol. Destes, 32 (44.4%) apresentaran1 wua ou mais resis-1cncias aos aotibi6ticos, sendo 22 (30.6%) resistentes a ritiunpicina. Os pedis de resistencia dos isolados sao apresentados na Tabcla I. Nove isolados (25.8%)
foram resistentes a wn anl.ibi6tico c 23 isolados
(7 1.9%) foram resistentes a 2 ou mais anlihioticos.

396 Vol. I! N' 6

rclac;iin entre difCrcntcs pedis. Houvc um g,.rnu tic relacionrunento entre os diterentes pertis de pclel menos 40% de similaridade 11a analise dos perfis das eslirpcs de Lisboa e de 50% nas esrirpes de Cabinda (Fig. 3). do numero de estirp.es isoladas em Cabinda, este tacto esui de acordo com o dcserilo para a estirJ>es isolada• em Al'rica (n), ondc aparece um grau de polimortismo menor, sendo muitas dfls estirpes bastante relacionadas entre· si. 0 menor polimorfismo veri(ic.ado nos palses africanos pode talvcz c:xplicar-sc porque a iocid@ncia de mberculose

Novembro/Dezembro J 996

EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE ESTIRPES DE MYCOBACTERiUM TUBERCULOSIS ISOL.ADAS liM LISBOA:

DESCRicAO PREllMINAR DE UM GEN6TIPO UN ICO EM PORTUGAL

TABELA I

cte de 1:-(0IHdos de Mycobaclenum rubt·rc .. frente 0 seroposirividade
ou em rehu;Uo uo HJV. Grupo 1 - isolados resistentes a um antibi6tico;
grupo U- isuludott n::;isteull::, <.t 2 l)u mnis aotibi6ticos,

N.' (%) t.Jc isohulos n:.·sistcnres de:

Grupo Antih10hco lndivlduus Jodivlduos
HJV HIV Total

I ISOm.;t7irl:-l I
Estrepton11Cina 0
Jl1raz1nanuda 0
Rifampicina I

II lsoniazidu 2
Rifamplcina
Estrcptomicinu

lsoniULidu I

lsoniazida I
Rifampicina
TL"'tal

c dcv>UbJ chit pouca das popuJa,oes o
que determinaria muitos casos de tuberculose por superintec<;oo, e poucos por i'la
conjunta de todas as estirpes, pelo menos 40%
de similaridade, tendo as estirpes de Cabinda apareci-do com similaridades com muitas estirpe.s de Lisboa, nao se compurlltmlo como urn gn1po
Alcm da,, 147 csti,·pcs analis>ICla.'<, ncstcc csmdn ns isnlados de uma familia compo:;ia de pai, mde e filha (isolados provenientes do lnstituto de H1giene e Medicina Trop1cal) como exemplo de relacionamento epidemiol6gico posslvel. Cu1iosamen-te. a amilise tlestas amostras resultaram em 3 pe.rfis distinl.os. As colheitas realizadas ao pai e a mae. foram cfccl.uadas na mcsma altura, no entanto a estirpe da

2 3 (?.7%}
3 3 (?.7%}
0 0
I 2 (6.4%)

13 15 (·18.4%)

2 3 (9.7%)

4 .s (16.1%)

25 J 1

'

ncos e os perfis dos isolados obtidos por RFLP. Ouas estirpcs isoladas em lisboa, sendo uma multirresisten-te e outra sensivel a todos os antibioticos tesrodos, apresentaram UJ11 perfil identico, facto de acordo com o previamente descrito poroutros aulores (11,13,14). lgualmente., a aquisir,:iio de resistencia a antibioti-cos in \•ivo, como resultado do tratamento, nilo re-sul-tou em qualquer re.arranjo genetico visivel na dislnbu-i9iio das IS, fcnbmcno ja ohsenrndo por Hennans et al. (8), van Soolingen et al. (13) e Otal et al. (15), indic.an-
rln que as IS de tubl!rculosts niio se
1ranspoem facilmente.
A de uma serologia posi Liva ao HlV,
taml>em niio foi possivel de ser relacionarla com os
perfis obtidos por RFLP, uum vcz que nos grupos de
tilha toi isolada lllliCS. F.sla ubscrvaciiu os estirpe.s illenticas cncontrados, apareciam estirpes
tres membros da mesma fumilia toram intectados por corrcspundcotcs n doentes HJV positivos e HfV
conroctos com doentes diferentes. ncgat i
Tal como demonstrado em ou!Tos estudos, nao An611sc dol grupos. 20.5% do nUmero totaJ de
houvc currela,iio entre a susceptil>ilidade aos antibi6- e.stirpes apresentou-se em grupos de pclo mcoos 2

Novenlbro/Dezembro J 996 Vol.llN"6 397

Rt;VISl"A I'ORTI..GUESA Dl! PNcUMOLOGIA

so 00 70 eo. 100
,,,, tt" "' "' :::: ,., r t t t j! ""'!I!! j 1 .... j c: t: I ttl! I

-

'-

'--

_,---Q

r--·

- I =

-

·-.......

.. -'= !:
= -.
-·-
-= .,_

·-:t:

·--
::

--

·r--" y-cr=-=' r

-

'-

-

,...

-

'---- -!

,.--

L..r-C

-

c;:

N. ::::

--
·-

-

.

I

=:::

=-

·-' .;:.:

== -E
=

.

...

·-· ·-:::

-
-

·-= . ·::: . . ·-·-0.:: '

::1: •

....

Fig. 2 - Oendrog.ramo. n:uli.Gudo em compumcior <los petfis obeidos Com a JSh 1 fO. das iwJawi.s em (e.c:urpe.s.c:om :u
tn1C1aic: M..X.T e P) e eu1 ·Cubinda (cstirpe.'l ccun n C): A· $tmllar•dade entre os perfi:;. ·C: huJicUda rio c1mo dn 1ermns deperccntogem. 0 roi o "UPGMA" en lndiccdecorrelaclio roi o "JeiTr.y•
x (tolcrincia mi.xun1 de 1.2:%). ··

estirpes id!nticllS c nilo cocontramos gtilf)\)8 com mais
de 5 cstirpes igu3JS (F1g. 2).
T nd-M as amostras de um mesmo doente

com perfis id!ntlcos, tendo sido

Vnl II N"6

recolhidlls coin i'ntervalos de ccrca de 6 e 9 meses.

Van Soolingeo et al {1'1) obscrvamm igualmeote que niio havia nos pcrfis obtidos de estirpes de M, isoladas de doente durante

Novembm!Deumbro I 996

I'PIO!;I.11(ll.OGIA MOLECULAR 01:. DE MYCOBACTERJU:\1 TUBERCULOSIS EM LISOOA: IJLSCRICAO PREll MINAR DE UM GE:-40TIPO UN ICO EM PORTUGAL

40

eo 10 00 100

so 70 110
o.......W...UJ.J..Ll...o...U...I.J :!: ! ! ! I I

90 100

!! !. !! ... " "

··-..
··-.. _

...

... ,.._ . .,_
....

f c . . .... ,
f§
·--

I -.___,-

lit-

... ,.-

....

= --=

Fix. 3- em scpurudu estirpe; de Coblnn (a) c <Ia> c::<lirpe> de Lislx>a (b). A entrt perfls e indi.::nda no cimo do d.<udrogrrun.a. em tennos de percentoaens

urn de doeno;a activa. A'<Sim, amosua• ""'JUCnciais
de)lm mesmo doente niio foram considc!1luas na
dos grupos.
Qu>mdu t;umparados os pertis de Lisbon com os de
Capmdn. n1io cnconl.rou entre eles.

1

De cnlre as eslirpes de C.abinda, 3 foram identifiC<ldas bioquimicamenle pelos metodos tradicionais, como scnlln lvfycobacterium africmumr
Das eslitllt:S de Cah inda, 17.4% aprcscntanrn:r-se em grupo (2 grupos de 2 cstirpcs dt;

Vol. II N" 6 399

KEVISTA PORTUGIJESA De PNJ::UMOLOGl-\

Lis boa, agnrparam-se 26 (J 8.8%) (2 gnrpos de 5 cstirpcs, 2 grupos de 4 csrirpcs, 2 grupos de 3 cstirpcs cum !,'TUpo de 2 c::stirpcs) (Fig. 3}. '
Um dos grupos encomrados em Lishoa (grupn de 4 perfis idenricos com 9 bandas, e urn com mais wna banda) chamou-nos a aten9ao pelo facto de rodas as bandas presemes se concemrarem numa regitio entre as 2.5 e as 7Kb, quando normalmenle se encontram tlislribuidMs t:nrre wliores de 0.8 a 16Kb (fig. 4). Jlace it dcs[as cstil'pcs '\cn:m t:<tractcrist lea-mente porruguesas, recorreu-se ao banco de ctnctns existente no National InstiTUte of Public Ht:"llh Mnd Environmental Protection em Rilrlr<>vcu. Holanda, Instiruto este que possui ma1s de 5000 periis nriumlo' de divcrsos paises europeus, alguns c alguns africanos. Nao foi encontrado qualquer perfil irlentico a estes perfis portugueses. A descober1a deste pertil em estlfllCl\ portug.ucsas rcprcscnhi, sem dllvida. a ma•s mteressante desta investig111:iro. Pedis geograficameme caracteristicos toram dcscritos em Nova Yorque, durante os anos de I 1)\)0 a 1'>95, nntk fcrram isolarlas 206 esrirpes multirresisre111es que apresentavam un1 perfil itlcnlicu, lcndo sido designado

tO 20 30 410 SO 60 70 80 90 100

Juuuuluuuulruuul mnLIIIIII,nlru unlwllln:.uuJnLUnl

por ''W" (16.17). lgtmlmcnlc "" Rt:publiclt PupuiMr lla China c nus p>t iscs vi;;,inhos como a Mongolia, Cor-eia
do Sui c um t:'<l.udn rcali7>Hio nos anns de
1992 a 1994, nrnslr'Ou a etc uma tamilia de estirpes muito bomogeneas (familia "Beijing"), par1rlhando a maior parte dos fragmemos de ongmados t>elas IS6110 (10). No nosso caso, a fre-qucncta de cstirpes com perfis ditos "portttgueses", foi de 4%. enquamo nos casos atras descritos. fora.m relacadas frequencias na ordem dos I 0.5% para a cslirpt: "W". t: de Rt\%. na Rcploblit:a Popnl>rrtla C:hiua
a mai:s haix('J nos vizinhc..1s,
cnm uma media de Nan a haixa

frequenc.a na nossa amostragem, e possivel que es.ta esrirpe se transmira na o que estudos mais completos desta questao.
Em conc.Jusao, esla conftrma que csrudus cpidcmiologit:us com t<l.cnicas que pem1itam
dilbrcnt:iMI:iiu dunul r.Je estirpcs de Mycobacterium
tuben:a!o.'iis slio imrnrtamc;'; para ohtcr 11111 ennht.:<.":i-
memo fino da e1>1dernrologia dn c podcr.:iu
conuibuir para de metodos ma is cl'icicul..:s
de c-onrrolo da

Fig. 4 Deudrognnnu pr:rlls com:spondcntcs do grupo de cmco e.llhrpes portugue!>as. "fodos os dot:ul.:s u qucl\l pcrtcnccn1 e$:tes perfis esth•etruu uudv.:; 110 Hospilul Pulido Valente, no enranlo houvc coincidfJlcia de dutu:; <Jc iotcmumcnto para
ncnhum havendn alguns qne esthrera1U ('nfcnnurius ou d1terenr.es. Os pertis PI 12:'9-!l. Pl 14/94
c: PJ 2J/9·4 a docmcs do scxo com respectivameme t 59 anos c n:.lildcntes em C.ac.em
< C(;J'\:UI do Alcntcjo. Os outros dois pcrfis, t•Hn/91 e P106/93 refecem.se u dotnlt"s do scxo fcmmmo. de 63 e 2'J anos ambas orivndu:s de Lisboa; a Ultimu pucicntc, <.lc cLnia cigana, a imica que apres.:nt.avu muJtirrcsistCncJa
untibi6ticos. JA t3lcceu.

400 Vol. JJ N" 6 Nvvcmbm/Uczcmhm I 996

EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR D£ ESTlRPES DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS ISOLADAS EM L!SBOA: DL:.SCIUCAO I'KELl)llli'>AR DE UM GEN6TIPO UNICO EM PORTUGAL

AGRADECD1E:-ITOS

Ap.wdc..;u uo Dr. Gumu ((abioda). Dr.u Isabel Mlrngain
(Ho:tpilul Pulido Vult:11h:), D1. Jo5o Ll,go (Hospital .. tilitar). Prof""
Dr.

11 Fi'lomcnJ Csposro ¢ llr:' nmi lia Prieto (IJ1Siitw.o de lligtene
t' TropkaJ 1 pel a cedencia e bioquim•C·' d:.:; estirpes utiliz.1das. 1amb6m AO J)ror Dr Vlf'lm?'. Pcre1ro pcla colnbor:it;3r.l presr3d:-t

R.IDUOGRAFIA

I. \. C..I.L .• STYBLO. K .. ,\:-.ID ROL'ILLON. '1. 'I uhercniCISIS m dcvcl<1p1ng countries: burden. inlcn·cnlioJI .1nrt rA>.:.J. BulL Int. Un1on l'uhcrc. Lung D1s. 65:6-24. J 990.
2. SlJCHRE. P .. TEN DAM. H.(i .. AND KOCHJ. A Tuborcu los is: J global of the lflti.'ly. 1\ull. W .I 1.( ). 159.1992.

3. HARHJ I:S, AS. fubcrculosis and hurrwn imruwu.>ddici<:flt;y virus infcct.ion in developing Lum:cl 335:387-3-
90. 1990.

- 1. HOI'E\VELL. P .C. lmpac1 of htuna.n imJ•lllllodeiicienty vinJs i11fec1ion on lhe epidcm.ioJogy. clinical J'Can1res. managnltnl. comrol of tuberculosis. Clin. lnfecl. Dis. 15:540-547
McADAM. R.A.. H.ERI>·IANS. I'.W.M .. VAl'> SOOLI!\- GEN. D .. ZAfl\'\, UDIX Z.F .. CATTY. D .. VAl\ E:VIBDEN.
J 0 ,_, , .:md DALE. J. \\/.Characterization of a :\1y .. ·obac.·um·- um inscr1ion S('((U('JlCe belonging lo tb(' JS3 lanuly. Mnl. Mlcrohlnl.4:1f\117-16D.
6. THIERRY. D .. BRISSON-NOEL. A .. VJNCENT-LEVY-FREBAlJLT. V .. NG\iYEN. S .. OUESDON, J.L .• A:-ID OICQUEL. B. \.lf u Mycobacrc.•rium

t•uJosis insertion s.equen.:e. (SG. I ,o. and its application iJI
di:lgllO!£is J CJin IQQO,
7. THIERRY. D., CAVE. M.D .. EISENACH. K.D .. CRAW-FORD.J.T., BATES. J.H .. OICQUEL. B .. AND GUESOON. J.L.lS61 JO, m•IS-Iik.; t!-lt'IHtnL of,\4y<.·<Jbuc:lttrmm tubt·rculo· ,;, complex. Nuclei< Adds Res.! 8:188. 1990.
8. HL:;RMAI\S, 1'. W.M., VAN S{)(JLlNGl\N, LJ .. LJALLJ . .I.W., SCHUITEf\.IA. A.R.J .. MCADAM, R.A., CATTY, D., AND VAl' EMBDEI\. J.D.A. IS986 from :\1ycolw.R:tc.•ri•lm tubc.•rc.,J/QstJ·. u useful tool fol' djog_uosis und epidemiology of tuberculosis. J. Cliil. Mierobiol. 28:2051 - 19911.

9. VAN El\oiBDEN, J.D.1\ .. CAVE, M.D .. CRAWFORD. J. r., DALE. J.W .. ElSE:-.!ACH. K.D., GlCQUEL. B .. HER-MANS, P . :..1ARTIN. C.. MCADAM. R .. SHINNlCK, T.M.,

f\!(wcmbro/Uczcmbro 1996

Unl mUltO ao l'rof. Doutor liugo David por todo o seu (lpO•O e prove•tOS.'\ dlscus.$-in e :mahse: rcst•lwdos.
Este tmbalho Jbi em parte tinrulc,it'tdo pcla Comissao Nacional de LutJ. C.ontra a SIDA c pela para o
to do Emino e lnvestigJ.;.ilo dtl Microbiologitl d\l f:IC\IIdnde de f'l'lm1:tcia de Lisboa

and Sf!.,1ALL. P.M. Str.lin identl.lkation of,\1ycoba(ll!f''imn rub(wcrt!osls b.v DNA nngcrprinting: reco111mendations for a mc1hodology. J Clin. M.icrobiol 3 I :40<\-
409.1'193

10. VAN SOOLINOEl'i. D., QUIA!\, L.. DE HAAS, P.E.W., DOUGLAS. J.T., TRAOR£, H .. PORTAELS, r .. QING, H.Z .. ENKHSAJKA:>f. D .. N'\'MADAWA. P .. AND VAl\

E:-otBDEN. J.D.A. Pr-:Uumiuum.:.: of u genotype uf
:'··(rw b!tt.:tt:rmm in o f Easl Asiu. l
Cliu. Microbiol. 33:3234-3238. 1995.

II. UII'VIUJL-IJELL.AGI. D .. /1. Al1DERRARAHMAN. 1(. HAL Tl 11, H. KOUJABI, B. GICQLJEL. and K. DELLAGI. Large-.scalc UNA f.ingcrpnnhng of .. t-Jyc:obactenum tuberclt-losls a:, a tool for cpklcmiofo.l(icul !;ludic:; o[tubercu-lo<is. J. Clin. Microbiol. .J I :244!>-24>0. 19<Xi.

12. vAl\ SOOLIN<iEN.IJ., Dl\ HAAS, l'.l!..W., Iii:'RMAI\S. 1'. W.M .. GIWENL:.N,I'.M.A .. AI\ lJ V AJ\ EMl:lDEN, LD.A. Comparision of variow repetitive DNA cl<..'tllcnts as genetic markers for strain diffcrcnlation and epidemiology of Mycobacterium ruberculosis .. 1. CJi11. 3 1: J9frl· 199>. 1993.

13. VAl\ SOOLINOE:-.I.D., P.W.M. HERlvL\NS. P.E.W. de HAAS. D.R. SOOL. A."lD .I.D.A. VAN l\:VHliJl\N. Oc-cnr-umJ :,wbilily uflnscrlion sequences in .Mj·cobactenum
shuim;: of un insertion
seque-ncekdependem 01'\A u:; u too) in lb.:
epidemiology of tubet·culosi:>. J. Cliu. 1\:Jicrobiol. 29:257&- 25&6 1991.

14. GODrlli:'Y-fOSSl\rL . I' .. N.G. S I 'OK I'll, .I.A.(;. scorr.
0. PASVOL. P. KELLY, AND L. CLANCY. Dna fin,gcr-prints u.fMy<:ubaf:lf!r;um luben·ulwu· do not change dunng the de .. ·eJopment of' ifa111pjciu resistu.ucco. Tubt:n.:k Lung Dis. 74:240-243. 1993.

15. OTAL, l., .\1AllTII\, C .• VI:-.ICI'.NT-l.I'.VY-FRE£1ALJI, T, V., THIEERRY. D., AND (;JC()Ul\L, B. lle.<triClion t}agnleut kngth polymorphism analysis using JSb II 0 an

Vol. IJ N' 6 401