

Concordancia de métodos para susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Mycobacterium tuberculosis* aisladas en Montería, Córdoba: tubo indicador de crecimiento micobacteriano vs. método de las proporciones múltiples

**JORGE MIRANDA, BACTERIOL¹, RODRIGO RÍOS, BACTERIOL¹,
SALIM MATTAR, PHD², NELSON ALVIS, PHD³**

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la concordancia del método manual MGIT AST SIRE (mycobacteria growth indicator tube for antimicrobial susceptibility testing to isoniazid, rifampin, ethambutol and streptomycin) frente al método de proporciones múltiples (PM) para determinar susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Mycobacterium tuberculosis*.

Métodos: Se analizaron 45 cepas de *M. tuberculosis* aisladas en la ciudad de Montería, entre 2003 y 2005, para susceptibilidad a (INH), rifampicina (RMP), etambutol (EMB) y estreptomycin (SM). El análisis de concordancia del método MGIT manual vs PM, se realizó con la prueba kappa.

Resultados: De las 45 cepas analizadas, 38 tuvieron idéntico resultado con ambos métodos y 7 tuvieron resultados discordantes. Los porcentajes globales de resistencia a medicamentos antituberculosos de las cepas analizadas por el MGIT manual y las PM fueron de 33.3% y 31.1%, respectivamente, la MDR fue 5 (11.1%) por PM y de 4 (8.8%) por MGIT manual. La concordancia del MGIT AST SIRE con el PM fue 95.5% para cada una de las drogas analizadas y Kappa global de 0.8374. En cada antibiótico se encontraron dos cepas discordantes para INH, RIF (un falso resistente y un falso susceptible). En STR y EMB (dos falsos sensibles). El tiempo promedio de resultado para cualquiera de los antimicrobianos fue 6.5 días (rango 5-8 días) por MGIT, mientras que para PM fue 20 a 25 días.

Conclusión: El presente estudio mostró que MGIT manual es concordante con PM, es rápido, sencillo y eficaz, para determinar la susceptibilidad de cepas de *M. tuberculosis*.

Palabras clave: *M. tuberculosis*; Susceptibilidad; Isoniacida; Rifampicina; Etambutol; Estreptomycin; Colombia.

Agreement between methods for antimicrobial susceptibility to *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Montería, Córdoba: mycobacteria growth indicator tube vs. proportion method

SUMMARY

Objective: To evaluate the agreement of manual MGIT (mycobacteria growth indicator tube for antimicrobial susceptibility testing to isoniazid, rifampin, ethambutol and streptomycin) for susceptibility testing vs proportion method on Lowenstein-Jensen (PM) in *Mycobacterium tuberculosis* strains.

Methods: A total of forty-five isolates of *M. tuberculosis* were tested for susceptibility to isoniazid (INH), rifampin (RMP), ethambutol (EMB), and streptomycin (SM). The strains were isolated in Montería, during 2003 and 2005. The agreement between the two assays mentioned was estimated by the Kappa test.

Results: There were thirty-eight strains with identical results while 7 had discrepant results with both methods. The overall resistance to antituberculosis drugs were 33.3% y 31.1% for manual MGIT and PM, respectively. MDR was 5 (11.1%) by PM and 4 (8.8%) by manual MGIT. The agreement between MGIT AST and PM was 95.5% for all drug tested and overall kappa value 0.8374. Two discrepancies were found in each drug; with INH and RIF (one false resistant and one false susceptible).

1. Joven Investigador, Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia. e-mail: jorgemirandaregino@gmail.com rodrigor333@yahoo.es
 2. Profesor Titular, Director Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Universidad de Córdoba, Montería, Córdoba. e-mail: mattarsalim@hotmail.com
 3. Director del Grupo de Investigaciones en Economía de la Salud, Universidad de Cartagena. e-mail: nalvis@yahoo.com
- Recibido para publicación mayo 30, 2007 Aceptado para publicación abril 18, 2008

STR and EMB (two false susceptibles). Turnaround times were 5 to 8 days (median, 6.5 days) for MGIT and 20 to 25 days for MP.

Conclusions: These preliminary data show a good level of agreement between manual MGIT AST SIRE and MP. Also MGIT is a rapid, easy and efficient method for the drug susceptibility testing of *M. tuberculosis*.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*; Susceptibility; Isoniazid; Rifampin; Ethambutol; Streptomycin.

Las cepas de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a múltiples drogas representan un serio problema de salud pública. La resistencia a las drogas de primera línea, utilizadas en el esquema de tratamiento estreptomycin (SM), isoniácida (INH), rifampicina (RMP), etambutol (EMB) (combinación conocida como SIRE) hace que los pacientes infectados con esas cepas sean difíciles de curar y además representan un sobrecosto económico-social para la comunidad y los programas de control¹. Por esta razón, es necesario detectar rápidamente estos casos antes que diseminen estas cepas.

La emergencia de la tuberculosis multirresistente (TB-MDR) ha impulsado el desarrollo de métodos más rápidos para descubrir tales cepas. El método de las proporciones múltiples es considerado el método de referencia para pruebas de susceptibilidad, pero requiere un mínimo de 3 a 4 semanas de incubación para obtener resultados. A partir de 1980 se empezó a usar el sistema radiométrico BACTEC 460 TB en medio líquido y con buenos resultados en un tiempo entre 5 y 6 días². Sin embargo, el uso de radioisótopos requiere equipos especiales y medidas de seguridad en el manejo de los desechos. Actualmente se encuentran disponibles métodos automatizados no radiométricos como el BACTEC MGIT 960 y el MGIT AST SIRE manual (sigla en inglés de mycobacteria growth indicator tube for antimicrobial susceptibility testing to isoniazid, rifampin, ethambutol and streptomycin). Sin embargo, estos métodos están siendo evaluados por la Food and Drug Administration (FDA)³. El método MGIT (tubo indicador de crecimiento micobacteriano de Becton Dickinson, Maryland, USA) se introdujo en 1995 y se emplea como método alternativo no radiométrico para susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *M. tuberculosis*. El medio contiene caldo middlebrook 7H9 modificado y posee un compuesto fluorescente embebido en silicona en la parte inferior del tubo, el compuesto

fluorescente es sensible a la presencia de oxígeno disuelto en el caldo. La concentración inicial del oxígeno disuelto apaga las emisiones procedentes del compuesto y se puede detectar muy poca fluorescencia. Los microorganismos al respirar consumen el oxígeno disuelto en el medio lo que permite observar la fluorescencia que es proporcional al número de bacterias presentes. La fluorescencia se puede descubrir manualmente con lámpara de Wood a 365 nm de luz ultravioleta⁴⁻⁷.

Estudios preliminares informan que el método MGIT puede servir para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana⁴⁻⁹, permite descubrir cepas MDR en un menor tiempo y a un menor costo, convirtiéndose en una alternativa para países en vías de desarrollo. El objetivo de este estudio fue analizar la concordancia del método manual MGIT AST SIRE en cepas de *M. tuberculosis* aisladas en la ciudad de Montería, frente al método de proporciones múltiples.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio. Se realizó un análisis de concordancia del método manual MGIT AST SIRE frente al método de proporciones múltiples en 45 cepas de *M. tuberculosis*.

Área geográfica. El estudio se hizo entre julio de 2003 y julio de 2005, en la ciudad de Montería, capital del departamento de Córdoba, situada a lo largo del río Sinú, con una temperatura promedio anual de 30° C y una humedad de 90%. Montería está en la costa Caribe colombiana a 1,300 km de distancia de la capital de Colombia, Bogotá.

Población de estudio y pacientes. La población de estudio la constituyeron pacientes con diagnóstico clínico y microbiológico de tuberculosis (TB) residentes en la ciudad de Montería, (350,000 habitantes) donde hay una prevalencia estimada anual de 4 casos por 10,000 personas, para un total de 140.

Se incluyeron los pacientes con diagnóstico clínico, radiológico y a quienes se les aisló en el cultivo *M. tuberculosis*. No se obtuvo información acerca del uso de drogas, consumo de alcohol o antecedentes de fumador. A cada enfermo se le tomaron datos sociodemográficos y epidemiológicos como edad, género, procedencia, estado serológico para VIH, fecha de diagnóstico, tratamiento previo y contactos con enfermos tuberculosos. La búsqueda se hizo en coordinación con

el personal de salud del programa de tuberculosis del municipio de Montería. Por la naturaleza y tamaño de la muestra de los pacientes se asumió representatividad frente a la población de estudio.

Obtención de muestras y su procesamiento. De los enfermos identificados en los diferentes centros de salud, mediante búsqueda activa de casos durante un período de dos años, se seleccionaron 45 (16% de la prevalencia estimada anual) que decidieron participar de forma voluntaria en el estudio. Los especímenes fueron esputos de pacientes con tuberculosis pulmonar y se procesaron en el Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico de la universidad de Córdoba. Las muestras se digirieron y descontaminaron con el método Ticket y Ticqson¹⁰. Por bioseguridad, la tinción de los esputos se llevó a cabo con la coloración de Kinyoun. El cultivo se hizo en el medio Lowenstein-Jensen y se incubó a 37° C durante seis semanas; la identificación definitiva tuvo como base la presencia de bacilos acidorresistentes, la morfología de las colonias, el tiempo de generación y las pruebas bioquímicas convencionales como catalasa y niacina. Las cepas se conservaron a -70° C en glicerol hasta efectuar la prueba de susceptibilidad.

Prueba de susceptibilidad método de las proporciones múltiples. Se utilizó el método de Canetti *et al.*¹¹ para determinar la resistencia a isoniacida (INH), rifampicina (RIF), etambutol (EMB) y estreptomina (SM). Las concentraciones fueron estas: INH, 0.2 µg/ml; RIF, 40 µg/ml; EMB, 2 µg/ml; STR, 4 µg/ml. Un microorganismo se definió como resistente si el porcentaje de bacilos crecidos era mayor o igual a la proporción crítica (1%) y susceptible si el porcentaje era menor a esa proporción crítica. Los resultados de resistencia se expresaron en porcentaje para cada medicamento. Como control se empleó una cepa ATCC H37Rv. Una cepa se definió como resistente cuando mostró por lo menos resistencia a uno de los cuatro medicamentos en estudio y la multiresistencia se consideró como resistencia a INH y RIF con o sin resistencia a otros fármacos¹².

Prueba de susceptibilidad método MGIT AST SIRE MANUAL. Para la preparación del inóculo se transfirieron colonias a un tubo estéril con caldo middlebrook 7H9 que contenía de 8 a 10 perlas de vidrio. La suspensión se homogeneizó en vórtex. El sobre-

nadante fue transferido a un segundo tubo estéril y la turbidez se ajustó al punto 0.5 MacFarland con solución salina. Un ml de esta solución se diluyó en 4 ml de solución salina estéril (dilución 1:5).

En cada tubo MGIT se adicionaron asépticamente 500 µl de suplemento OADC (ácido oleico, dextrosa y catalasa, Difco Laboratories, Detroit), seguido de 100 µl de los antibióticos (STR, 0.8 µg/ml; INH, 0.1 µg/ml; RIF, 1.0 µg/ml y EMB, 3.5 µg/ml), equivalentes a las concentraciones críticas de medicamento recomendadas por el CDC¹³. Por último se inocularon 500 µl de la suspensión 1:5 del microorganismo. El medio se incubó a 37°C y se examinó por fluorescencia con lámpara de Wood diariamente durante 15 días. Para considerar una cepa sensible o resistente se tomaron las indicaciones del fabricante; una cepa se catalogó como resistente si el tubo que contenía el medicamento indicaba desarrollo después del tercer día (presencia de fluorescencia) y como susceptible si no se detectaba fluorescencia hasta el día doce después de la inoculación.

Como control se utilizó una cepa ATCC H37Rv, el control positivo fue un tubo MGIT sin antibiótico, suplementado con OADC e inoculado con 500 µl de suspensión del microorganismo. El control negativo era un tubo MGIT sin inóculo bacteriano.

Análisis de los resultados. Los cálculos de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) se hicieron con el programa estadístico EPIDAT versión 3.1. Para valorar la concordancia se empleó la prueba Kappa. Interpretación del valor kappa: pobre, ≤ 0.2 ; aceptable, 0.21-0.6; bueno, 0.61-0.8; excelente, ≥ 0.81 ¹⁴.

Aspectos éticos. Se siguieron las normas técnicas, científicas y administrativas para la investigación en salud, del Ministerio de Salud de Colombia, Resolución N° 008430 del 4 de octubre de 1993. A lo largo del estudio siempre se protegió la privacidad e intimidad del paciente y se identificó con un número interno. Los resultados de los análisis se incluyeron en una base de datos para usarlos de forma anónima mediante la asignación de un número. A todos los sujetos que ingresaron en la investigación se les explicó verbalmente el tipo de estudio y se obtuvo su consentimiento oral y escrito. El estudio lo aprobó el Comité de Ética del Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico de la Universidad de Córdoba.

Cuadro 1
Concordancia, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y
valor predictivo negativo del método MGIT manual AST SIRE y PM

Métodos	Antibióticos	PM	S	R	Concordancia	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)	Kappa	
											S
MGIT	INH	S	33	1	0.95	90.9	97.1	90.9	97.1	0.8797	
		R	1	10							
	RIF	S	38	1	0.95	83.3	97.4	83.3	97.4	0.8077	
		R	1	5							
	EMB	S	39	2	0.95	66.7	100.0	100.0	95.1	0.7761	
		R		4							
	STR	S	38	2	0.95	71.4	100.0	100.0	95.0	0.8085	
		R		5							
											KG: 0.8374

INH: Isoniacida; **RIF:** rifampicina; **EMB:** etambutol; **STR:** estreptomina. **PM:** método de las proporciones múltiples. **VPP:** valor predictivo positivo; **VPN:** valor predictivo negativo. **KG:** Kappa global. Interpretación del valor de Kappa: pobre: ≤ 0.2 , aceptable 0.21-0.6, bueno: 0.61-0.8, excelente: ≥ 0.81

RESULTADOS

La edad de los pacientes tuvo rangos de 14 a 76 años con una media de 40 años. De los 45 pacientes, 25 (55%) eran mujeres y 20 (45%) hombres. En dos enfermos (4.4%) el diagnóstico fue positivo para VIH. A todos se les diagnosticó tuberculosis pulmonar; la baciloscopia fue positiva para 38 (85%); en los 7 restantes el diagnóstico se hizo con radiología y cultivo. Se encontró evidencia de historia previa de tuberculosis en 7 pacientes, que habían sido tratados antes (se desconoce la terapia previa que recibieron), 5 mostraban algún tipo de resistencia y 3 de ellos presentaron cepas MDR.

De las 45 cepas analizadas 38 mostraron idéntico resultado con ambos métodos y 7 tuvieron resultados discordantes; 29 cepas fueron susceptibles y 16 presentaron resistencia a algún medicamento por ambos métodos. Los porcentajes globales de resistencia a medicamentos antituberculosos de las cepas analizadas por el MGIT manual y las PM fueron 33.3% y 31.1%, respectivamente. El PM mostró 5 (11.1%) cepas MDR mientras que MGIT manual detectó 4 (8.8%). La concordancia del MGIT AST SIRE con el PM fue 95.5% para cada uno de los medicamentos analizados en el Cuadro 1, se observan la concordancia, la sensibilidad, la especificidad, los valores predictivo positivo y predictivo negativo del método MGIT manual AST SIRE y PM.

Los resultados de susceptibilidad para cada antibiótico fueron:

- **Isoniacida:** por ambos métodos 12 cepas fueron resistentes y 33 susceptibles; dos cepas fueron discordantes, una resistente por MGIT (VPP=90.9%) susceptible por PM falso resistente, mientras que otra cepa fue susceptible por MGIT (VP=97.1%) resistente por PM falso susceptible. El análisis de la concordancia mostró valores Kappa de 0.8797 (IC 95%: 0.7170-1.000).
- **Rifampicina:** por ambos métodos 6 cepas fueron resistentes y 39 susceptibles; dos cepas fueron discordantes, un falso resistente (VPP=83.3%) y un falso susceptible (VPN=97.4%). Con un valor Kappa 0.8077 (IC 95%: 0.5499-1.000).
- **Etambutol:** por ambos métodos 6 cepas fueron resistentes y 39 susceptibles; dos cepas fueron discordantes, resistentes por PM y susceptibles en el MGIT manual, falsos susceptible VPP=100% y VPN 95.1%. Con valor Kappa 0.7761 (IC 95%: 0.4805-1.000).
- **Estreptomina:** por ambos métodos 7 cepas fueron resistentes y 38 susceptibles; al igual que en EMB dos cepas fueron discordantes, falsos susceptibles VPP=100%; VPN 95.0%. Valor Kappa 0.8085 (IC 95%: 0.5539-1.000).

El tiempo de resultado para MGIT AST SIRE varió

Cuadro 2
Estudios previos de susceptibilidad antimicrobiana con el sistema manual MGIT AST SIRE

Referencia	Cepas estudiadas (n)	Método de referencia	% concordancia			
			IHN	RIF	EMB	STR
Palomino <i>et al.</i> ⁷ 1999	101	PM	100.0	98.0	99.0	91.0
Macondo <i>et al.</i> ¹⁷ 2000	70	PM y Middlebrook 7H10	97.1	100.0	94.2	91.4
Telles <i>et al.</i> ¹⁹ 2002	100	PM y método resistencia radio	100.0	98.0	no	no
Koskela <i>et al.</i> ⁴ 2003	36	BACTEC460	97.0	100.0	64.0	72.0
Mengatto <i>et al.</i> ¹⁸ 2006	64	PM	97.0	100.0	no	no
Fegou <i>et al.</i> ²⁰ 2006	88	PM	84.1	93.2	90.9	84.0
Estudio actual 2006	45	PM	95.5	95.5	95.5	95.5

IHN: Isoniacida; **RIF:** rifampicina; **EMB:** etambutol; **STR:** estreptomina. **PM:** método de las proporciones múltiples.

de acuerdo con la susceptibilidad de la cepa. En los aislados susceptibles el tiempo promedio fue 6.5 días (rango 5-8 días) para cualquiera de los medicamentos. En las cepas resistentes fue 5 días (rango 3-7 días) a cualquier medicamento. El tiempo de resultado para el PM estuvo entre 28 y 42 días.

DISCUSIÓN

La resistencia a los medicamentos antituberculosos constituye una amenaza para el control de la enfermedad, particularmente en aquellas áreas donde la estrategia TAES (tratamiento acortado estrictamente supervisado) no se ha puesto en ejecución de manera adecuada. Por lo general en Colombia y en Córdoba no se realizan pruebas de susceptibilidad a los aislamientos de *M. tuberculosis*, pues ese estudio se reserva para casos de fallas terapéuticas, recurrencias y TB extrapulmonar.

Los porcentajes de resistencia global en el presente trabajo; PM de 31.1% y MGIT de 33.3% son elevados si se comparan con los del último estudio nacional de resistencia de *M. tuberculosis* donde informan cifras de resistencia global de 20.7%. Sin embargo, los porcentajes de MDR; PM de 11.1% y MGIT 8.8% son similares a los que se comunicaron en el estudio de vigilancia donde la MDR fue 9.6%¹⁵.

Recientemente con el MGIT manual se informó una buena correlación con los métodos de referencia para susceptibilidad a *M. tuberculosis*^{4,7,17-20} (Cuadro 2). En este estudio 38 cepas tuvieron idéntico resultado y 7 fueron discordantes, una de las discordantes lo fue para

dos antibióticos, aun así el MGIT manual tuvo un buen desarrollo para las cuatro drogas de primera línea con valores de concordancia de 95.5% y un valor Kappa global de 0.8374. Con respecto a las cepas de los pacientes tratados antes, sólo cuatro presentaron algún tipo de resistencia; de ellos tres fueron MDR por PM, mientras que el MGIT manual detectó dos cepas MDR.

El MGIT manual constituye una buena alternativa en el diagnóstico de cepas MDR como lo mencionan otros autores^{7,9,18,19}. En este estudio el MGIT manual mostró una concordancia de 97.8% y una especificidad de 100% para cepas MDR. Sin embargo, existen ligeras discrepancias en la sensibilidad obtenida, 80%. Esta discrepancia en la sensibilidad se debe al bajo número de cepas MDR detectadas por PM (5 cepas) y a que el MGIT manual sólo falló en descubrir una de las cepas MDR.

El MGIT manual ha presentado resultados discrepantes en EMB y STR pero especialmente EMB. La sensibilidad obtenida para EMB y STR en el presente estudio fue 66.7% y 71.4%, respectivamente, otros estudios informan discrepancias en EMB y STR^{4,6,7}. Estas discrepancias quizá se deben a diversos factores como heterorresistencia, naturaleza bacteriostática, la reducida actividad de la droga en medios de cultivo, los diferentes períodos de incubación en el MGIT manual y el método de las proporciones, que se puede asociar con las distintas fases de degradación del antibiótico y el estrecho margen entre la concentración mínima inhibitoria (MIC) de las cepas susceptibles y resistentes, es decir que el punto de corte está cerca de la MIC entre susceptibilidad y resistencia^{18,21}.

Si bien el BACTEC 460 es el método mejor validado para pruebas de susceptibilidad de *M. tuberculosis* y el que se toma como referencia a nivel mundial⁷, requiere equipos costosos que no se encuentran disponibles en ciudades como Montería. El método MGIT manual se convierte en una alternativa aceptable y válida en la realización de una prueba rápida de susceptibilidad para *M. tuberculosis*, pues no se requiere instrumentación especial y sólo es necesario una lámpara de luz ultravioleta¹⁶. El MGIT manual constituye una alternativa rápida en el diagnóstico de cepas MDR, además es simple y fácil de utilizar, es una alternativa costo efectiva para un aislamiento más rápido de micobacterias en laboratorios, comparado con el sistema altamente costoso de BACTEC 460²², debido a que no necesita materiales radioactivos ni equipos costosos, lo que podría sugerir su uso en los laboratorios de microbiología clínica.

También se sabe que la susceptibilidad a las drogas para *M. tuberculosis* es más rápida en medios líquidos que en medios sólidos^{8,15,16}. El tiempo de resultados para MGIT AST SIRE en este estudio fue 6.5 días, comparado con los 21 días del método de las proporciones. Otros trabajos previos¹⁶ informaron datos similares. El corto tiempo en la detección de resistencia evitaría malos esquemas de tratamiento, por lo que se ahorrarían costos de re-tratamiento, pues hay fármacos de segunda elección que tienen un alto costo (capreomicina, kanamicina, cicloserina) y en general un día de re-tratamiento cuesta alrededor de 50 dólares, mientras que un día de tratamiento con fármacos de primera línea (INH, RIF, ETM, PAZ) tiene apenas un costo de medio centavo de dólar.

En conclusión, aunque el tamaño de la muestra analizada es pequeño, el presente trabajo preliminar indica que el sistema MGIT AST SIRE tuvo una buena concordancia con el método de las proporciones múltiples en la determinación de la susceptibilidad a las drogas de primera línea para *M. tuberculosis*.

AGRADECIMIENTOS

A Colciencias y la Universidad de Córdoba por su apoyo al programa de jóvenes investigadores. Al Laboratorio de Salud Pública del Atlántico, Sección de Micobacterias; a la Secretaría de Salud y Seguridad Social Municipal de Montería; al Laboratorio Departamental de Salud Pública.

REFERENCIAS

1. Heifets L, Cangelosi G. Drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*: a neglected problem at the turn of the century. *Int J Tuberc Lung Dis*. 1999; 3: 564-81.
2. Siddiqi SH, Libonati JP, Middlebrook G. Evaluation of rapid radiometric method for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol*. 1981; 13: 908-12.
3. Piersimoni C, Olivieri A, Benacchio L, Scarparo C. Current perspectives on drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex: the automated no radiometric systems. *J Clin Microbiol*. 2006; 44: 20-8.
4. Koskela K, Katila M. Susceptibility testing with the manual mycobacteria growth indicator tube (MGIT) and the MGIT 960 system provides rapid and reliable verification of multidrug-resistant tuberculosis. *J Clin Microbiol*. 2003; 41: 1235-9.
5. Ardito F, Sanguinetti M, Sechi L, Posteraro B, Masucci L, Fadda G, et al. Comparison of the mycobacteria growth indicator tube with radiometric and solid culture for isolation of mycobacteria from clinical specimens and susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *New Microbiol*. 2000; 23: 151-8.
6. Bergmann JS, Fish G, Woods GL. Evaluation of the BBL MGIT (mycobacterial growth indicator tube) AST SIRE system for antimycobacterial susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* to 4 primary antituberculous drugs. *Arch Pathol Lab Med*. 2000; 124: 82-6.
7. Palomino J, Traore H, Fissette K, Portaels F. Evaluation of mycobacteria growth indicator tube (MGIT) for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis*. 1999; 3: 344-8.
8. Ru'Sch-Gerdes S, Domehl C, Nardi G, Gismondo MR, Welscher HM, Pfyffer GE. Multicenter evaluation of the mycobacteria growth indicator tube for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to first-line drugs. *J Clin Microbiol*. 1999; 37: 45-48.
9. Palaci M, Mizuka S, Nakamura D, Da Silva M, Telles S, Curcio M, et al. Evaluation of mycobacteria growth indicator tube for recovery and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from respiratory specimens. *J Clin Microbiol*. 1996; 34: 762-4.
10. Tison F, Devulder B. Current methods of isolation and identification of mycobacteria. *Pathol Biol*. 1965; 13: 458-62.
11. Canetti G, Fox W, Khomenko A, Mahler N, Menon NK, Mitchinson DA, et al. Advances in the techniques of testing mycobacterial drug sensitivity and the use of sensitivity test in tuberculosis control programs. *Bull World Health Organ*. 1969; 41: 21-43.
12. World Health Organization. *Anti-tuberculosis drug resistance in the world report N° 3, 2004*. WHO, 2005. (fecha de acceso febrero 3 de 2006). Disponible en: <http://www.who.int/gtb/publications/drugresistance/2004/index.htm>
13. Kent PT, Kubica GP. *Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory*. USDHHS. Atlanta: Center for Disease Control; 1985.
14. Viera A, Garrett J. Understanding inter-observer agreement: The kappa statistic. *Fam Med*. 2005; 37: 360-3.

15. Instituto Nacional de Salud. *Vigilancia de la resistencia de Mycobacterium tuberculosis a los medicamentos. Colombia 2004-2005*. [Fecha de acceso agosto 14 de 2006]. Disponible en: http://www.ins.gov.co/pdf/rnl/informe_final_EVR_2004_2005.pdf
16. Walters S, Hanna B. Testing of susceptibility of *M. tuberculosis* to isoniazid and rifampin by mycobacteria growth indicator tube method. *J Clin Microbiol*. 1996; 31: 1565-7.
17. Macondo E, Ba F, Gaye A, Toure N, Kaire O, Gueve A, *et al*. Rapid susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* by the mycobacteria growth indicator tube (MGIT AST SIRE). *Clin Microbiol Infect*. 2000; 6: 361-5.
18. Mengatto L, Chiani Y, Susana M. Evaluation of rapid alternative methods for drug susceptibility testing in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006; 101: 535-42.
19. Telles M, Bori A, Amorim A, Cruz A, Pini M, Sato D. Rapid detection of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* using the mycobacteria growth indicator tube (MGIT) system. *Braz J Med Biol Res*. 2002; 35: 1127-31.
20. Fegou E, Jelastopulu E, Nicolau S, Sevdali M, Anagnostou S, Kanavaki S, *et al*. Comparison of the manual mycobacteria growth indicator tube and the Etest with the method of proportion for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Chemotherapy*. 2006; 52: 174-7.
21. Madison B, Robinson-Dunn B, George I, Gross W, Lipman H, Metchock B, *et al*. Multicenter evaluation of ethambutol susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* by agar proportion and radiometric methods. *J Clin Microbiol*. 2002; 40: 3976-9.
22. Chitra C, Prasad C. Evaluation of mycobacteria growth indicator tube (MGIT) for primary isolation of Mycobacteria. *Indian J Tuberculosis* 2001; 48: 155-6.
23. Camiero J. Management of multidrug-resistant tuberculosis and patients in retreatment. *Eur Respir J*. 2005; 25: 928-36.