

ANÁLISE DO MÉTODO OGAWA-KUDOH E COMPARAÇÃO COM O MÉTODO LAURIL SULFATO DE SÓDIO-LOWENSTEIN-JENSEN PARA DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE NO ESTADO DE RONDÔNIA

OGAWA-KUDOH METHOD OF ANALYSIS AND A COMPARISON WITH THE SODIUM LAURYL SULFATE METHOD -LOWENSTEIN-JENSEN FOR THE DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS IN THE STATE OF RONDÔNIA

Maria do Socorro Calixto de Oliveira
socorrocalixto@bol.com.br
PGBIOEXP/UNIR

Cleoni Alves Mendes de Lima
cleoniml@yahoo.com.br
LACEN/RO

Maria Manuela da F. Moura
mmoura33@hotmail.com
Universidade Federal de Rondônia - UNIR

RESUMO: No Brasil o método padrão de digestão e descontaminação para amostras de escarro é o Lauril Sulfato de Sódio (LSS) e o meio de cultura sólido mais utilizado é o Lowenstein-Jensen. O presente trabalho teve por objetivo comparar o método de descontaminação e cultura Ogawa-Kudoh com o método de descontaminação Lauril Sulfato de Sódio com sementeira em Lowenstein-Jensen. Foram analisadas 184 amostras de culturas, para diagnóstico e controle de tratamento de pacientes, utilizando o método Ogawa-Kudoh e o método Lauril Sulfato de sódio-Lowenstein Jensen. Comparando a baciloscopia com a cultura nos dois métodos, das 39 amostras com baciloscopias positivas, 34 (84,21%) culturas foram positivas no meio Ogawa-Kudoh e 16 (41,02%) positivas no Lauril Sulfato de Sódio-Lowenstein Jensen; Nas amostras com baciloscopia negativa e culturas positivas, o método Ogawa-Kudoh apresentou maior sensibilidade, 15 (10,34%) enquanto que no Lowenstein-Jensen apenas 6 (4,13%). O método de Ogawa-Kudoh apresentou 5 amostras (2,72%) com contaminação e 13 (7,06%) amostras apresentaram contaminação pelo método Lowenstein Jensen. Verificou-se que nas amostras com culturas positivas, 45 (26,31%) cresceram pelo método Ogawa-Kudoh e 22 (12,86%) cresceram pelo método Lauril Sulfato de Sódio com sementeira em Lowenstein Jensen. Os resultados obtidos neste experimento reforçam que o método simplificado Ogawa-Kudoh pode substituir o método Lauril Sulfato de Sódio-Lowenstein Jensen sem prejuízos para a busca de casos no Programa Nacional de Controle da Tuberculose em nosso Estado, principalmente em laboratórios com baixos recursos financeiros e tecnológicos.

Palavras-chave: Tuberculose. Ogawa-Kudoh. Lauril Sulfato de Sódio. Lowenstein-Jensen.

ABSTRACT: In Brazil, the standard method of digestion and decontamination of sputum samples is Sodium Lauryl Sulfate (SLS). The most commonly used solid sodium is Lowenstein-Jensen. This study aimed to compare the method of decontamination and culture with the Ogawa-Kudoh method of decontamination Sodium Lauryl Sulfate plated on Lowenstein-Jensen. 184 samples were analyzed from cultures for diagnosis and the monitoring of treatment of patients using the Ogawa-Kudoh method together with the Sodium Lauryl Sulfate-Lowenstein Jensen method. Comparing the smear with culture in both methods, 39 samples with positive sputum smears were found 34 (84.21%) cultures were positive in the Ogawa-Kudoh medium and 16 (41.02%) positive in the Sodium Lauryl Sulfate Lowenstein-Jensen; in samples with negative sputum smears and positive cultures, the Ogawa-Kudoh method showed a higher sensitivity, 15 (10.34%) while Lowenstein-Jensen, showed only 6 (4.13%). The Kudoh Ogawa presented 5 contaminated samples (2.72%) while 13 (7.06%) samples were contaminated by the method Lowenstein Jensen. It was found that in samples with positive cultures, 45 (26.31%) had been grown the Ogawa-Kudoh method and 22 (12.86%) grown by the method Sodium Lauryl Sulfate plated on Lowenstein Jensen. The results of this experiment emphasize that the simplified Ogawa-Kudoh method can replace Sodium Lauryl Sulfate Lowenstein-Jensen without harming the search for cases in the National Tuberculosis Control in our state, especially in laboratories with low financial resources and technology.

Keywords: Tuberculosis. Ogawa-Kudoh. Sodium Lauryl Sulfate. Lowenstein-Jensen

INTRODUÇÃO

O propósito do Programa Nacional de Controle da Tuberculose é reduzir a transmissão do bacilo da tuberculose na população, através das ações de diagnóstico precoce e tratamento adequado dos casos. Os métodos bacteriológicos (baciloscopia e cultura) ainda são prioritários para o diagnóstico da tuberculose, pois permitem a demonstração do bacilo, estabelecendo a etiologia da doença (BRASIL, 2005a).

Diversos estudos comprovam que as dificuldades para controlar a tuberculose aumentaram com o advento da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), por meio da co-infecção *M. tuberculosis*/HIV, tanto nos países desenvolvidos quanto naqueles em desenvolvimento (MASCARENHAS et al., 2005).

O problema da tuberculose no Brasil reflete o estágio de desenvolvimento social do país, onde os determinantes do estado de pobreza, a fragilidade na organização do sistema de saúde e as deficiências de gestão limitam a ação da tecnologia e, por conseqüência, inibem a queda sustentada das doenças marcadas pelo contexto social. No caso da tuberculose, duas novas causas concorrem para o agravamento do quadro: i) a epidemia de AIDS e ii) a multirresistência às drogas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

Cultura é o exame laboratorial que permite a multiplicação e o isolamento de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) a partir da sementeira da amostra clínica, em meios de cultura específicos para micobactérias. É um método sensível e específico para o diagnóstico das doenças causadas por micobactérias, principalmente para a tuberculose (TB) pulmonar e extrapulmonar (BRASIL, 2008).

A cultura possibilita diagnosticar mais precocemente os casos novos de tuberculose pulmonar, nos quais a eliminação bacilar não é suficiente para ser detectada pela baciloscopia, evitando o aparecimento dos bacilíferos que são a fonte de transmissão da doença. O cultivo permite posterior identificação da micobactéria isolada, assim como a realização do teste de sensibilidade, o que não é possível quando se realiza somente a baciloscopia (BRASIL, 1994).

Apesar de um grande investimento, nestes últimos anos, em novos métodos de diagnóstico e o avanço alcançado em metodologias que trazem mais agilidade ao diagnóstico da tuberculose, a cultura continua seguindo como padrão ouro. As modernas metodologias baseadas em biologia molecular são complexas e de alto custo, inviabilizando sua utilização de forma universalizada (PEDRO, *et al.*, 2001).

A cultura de amostras pulmonares é agora mais importante do que no passado por causa do aumento da resistência aos medicamentos contra tuberculose, a prevalência de micobactérias não tuberculosas (MNT), infecções em pacientes HIV positivo, e técnicas eficazes para a epidemiologia molecular (JASPE *et. al.*, 2009). No Brasil, o método de N-

Acetil-L-Cisteína-Hidroxido de Sódio (NALC-NaOH), Petroff modificado e o Lauril Sulfato de Sódio(LSS) tem sido utilizado como o processo de digestão e descontaminação padrão para amostras de escarro e o meio de cultura sólido mais utilizado é o Lowestein-Jensen. Este método é trabalhoso requer pelo menos 30 min de centrifugação e processamento em uma cabine de segurança biológica por pessoal tecnicamente qualificado.

O método de descontaminação e meio de cultura utilizado em Rondônia é o Lauril Sulfato de Sódio e Lowenstein-Jensen, respectivamente. Estes métodos são recomendados pelo Ministério da Saúde, e são realizados no Laboratório Central de Rondônia-LACEN-RO. A maioria dos municípios do Estado de Rondônia realiza a baciloscopia, portanto é necessária a utilização da cultura para o diagnóstico ou acompanhamento de casos. As amostras são enviadas para o LACEN/RO em Porto Velho, único órgão responsável pela cultura em todo Estado.

Kudoh & Kudoh em 1974 propuseram uma técnica simplificada para descontaminação de amostras de escarro, que utiliza o *swab* de algodão e hidróxido de sódio, com semeadura direta em meio de cultura Ogawa . Leva apenas 3-4 min por amostra, não necessita de técnicos qualificados, não utiliza etapa de centrifugação e não é necessário uma cabine de segurança biológica.

Esta técnica foi selecionada para este estudo por ser um método simples, sensível e de baixo custo e, teve também como alvo sugerir a sua implantação em vários municípios do Estado, principalmente nos municípios prioritários e ou de difícil acesso, trazendo como grande vantagem a melhoria na qualidade do diagnóstico bacteriológico da tuberculose, favorecendo a busca de casos e propiciando ainda estudos de sensibilidade/resistência a drogas e identificação de micobactérias não tuberculosas, aumentando a cobertura diagnóstica

Esta pesquisa teve como objetivo verificar o desempenho e a confiabilidade do método Ogawa-Kudoh comparando com o método de descontaminação Lauril Sulfato de Sódio e meio de cultura Lowenstein-Jensen(LSSLJ).

MÉTODOS

No período de maio de 2007 a maio de 2008, foram analisadas 184 amostras provenientes de 173 pacientes sintomáticos respiratórios e 11 de pacientes com suspeita de tuberculose extrapulmonar. Destas, 41 amostras de pacientes em controle de tratamento e 143 pacientes para diagnóstico.

As amostras foram coletadas segundo as normas recomendadas pelo Manual de Bacteriologia da Tuberculose do Ministério da Saúde (BRASIL, 2005b).

Os dados originaram um banco de dados, que foi armazenado e trabalhado no software Microsoft Office Excel e pelo software BioEstat 2.0 (AYRES, *et.al.*, 2000) sendo utilizado na análise das variáveis o teste χ^2 (qui-quadrado) com correção de Yates, adotando-se como valor significante $p < 0,05$.

Para verificação de concordância entre os métodos diagnósticos calculou-se o índice Kappa pelo software BioEstat 2.0 (AYRES, *et.al.*, 2000) e a interpretação foi estabelecida conforme as recomendações de Pereira, (2002). Para a determinação da sensibilidade, especificidade e acurácia foi utilizada a tabela 2 x 2.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Rondônia, e aprovado sob o parecer nº 01/2007.

Processamento Bacteriológico

Baciloscopia – Para a pesquisa de Bacilos Álcool Ácido-Resistentes (BAAR) foram feitos esfregaços de cada amostra de escarro e corados utilizando o método de Ziehl-Neelsen. Foram realizadas leitura das lâminas e quantificação bacilar segundo a escala semiquantitativa e de acordo com as normas do MINISTÉRIO DA SAÚDE-SVS, (2005b).

Método de descontaminação de Ogawa-Kudoh- Este método é também conhecido como “*New swab culture method*”, (KUDOH e KUDOH, 1974). Utilizou-se Hidróxido de Sódio a 4% como agente de descontaminação. Um *swab* estéril, após ser impregnado com o escarro, foi deixado por 2 minutos em NaOH 4% e então semeado com movimentos rotatórios e em zigue-zague, no meio de Ogawa modificado (Ogawa-Kudoh) com pH ácido de 6.4, o que dispensa a neutralização, pois o meio é tamponado (SUSEMIHL, et al., 1993; COELHO, et al., 1999).

Método de descontaminação Lauril Sulfato de Sódio-Foram adicionados 3ml da solução “A” a aproximadamente 2ml do espécime analisado contido em tubo de centrífuga, com capacidade para 50ml. No caso de escarro muito purulento foi adicionado um volume maior da Solução “A” (3,5ml a 4,0ml), a fim de fluidificar o espécime. Agitou-se periodicamente por 30 minutos. Depois juntou-se a Solução “B” em volume suficiente para neutralizar a solução “A”. Em seguida a mistura foi centrifugado, a 3.000g durante 30 minutos, para concentração dos bacilos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005b).

Semeadura-Para o meio Ogawa foi passado *swab* sobre a superfície dos 2 tubos com meio mediante movimentos rotatórios e em zigue-zague de maneira a espalhar bem o inóculo. (KUDOH & KUDOH, 1974). No meio Lowenstein- Jensen foi semeado com pipeta estéril 0,2 ml do sedimento em dois tubos com os meios, segundo recomendações do Ministério da Saúde (BRASIL, 2005b).

Os tubos foram incubados a 37° C realizando-se a leitura dos mesmos na 1ª, 2ª, 3ª, 4ª, 5ª, 6ª, 7ª e 8ª semanas de incubação. Não havendo crescimento nos tubos após 60 dias as culturas foram consideradas negativas. Todos os procedimentos foram realizados no Laboratório Central de Saúde Pública de Rondônia (LACEN).

RESULTADOS

Os resultados da baciloscopia em 184 amostras foram: 39 (21,11%) positivas e 145 (78,80%) negativas. Em relação a cultura no método Ogawa-Kudoh, 49 (26,63%) culturas positivas e 130 (70,65%) culturas negativas. No método LSSLJ, 22 (11,95%) culturas foram positivas e 149 (80,97%) culturas negativas (Tabela 1).

Tabela 1-Resultado da cultura utilizando meio Ogawa-Kudoh e Lowenstein- Jensen segundo baciloscopia

Amostras	N	Meios de cultura					
		O-K			LSSLJ		
		Pos (%)	Neg (%)	Cont (%)	Pos (%)	Neg (%)	Cont (%)
Baciloc Neg	145	15 (10,34)	126 (86,89)	4 (2,75)	6 (4,13)	133 (91,72)	6 (4,13)
Baciloc Pos	39	34 (87,17)	4 (10,25)	1 (2,56)	16 (41,02)	16 (41,02)	7 (17,94)
Total	184	49	130	5	22	149	13

N= N° de amostra Bacilosc= Baciloscopia, Neg= Negativas, Pos= Positivas Cont= Contaminadas
O-K= Ogawa-Kudoh ; LSSLJ= Lauril Sulfato de Sódio-Lowenstein Jensen

Pelo método de Ogawa-Kudoh 5 amostras (2,72%) apresentaram-se contaminadas e 13 (7,06%) pelo método de LSSLJ, um valor estatisticamente significativo ($p= 2,6 \times 10^{-6}$ com correção de Yates) (Tabela 2). Das 13 amostras do LSSLJ contaminadas, 4 amostras

apresentaram-se também contaminação pelo Ogawa-Kudoh (O-K). Das 5 amostras contaminadas no O-K somente 1 não contaminou no LSSLJ.

Tabela 2-Resultados comparativos referentes à contaminação em meio Ogawa-Kudoh e em meio Lowenstein-Jensen .

	LSSLJ contaminado	LSSLJ não contaminado	Total
O-K contaminado	4 (30,77%)	1(0,54%)	5 (2,72%)
O-K não contaminado	9 (69,23%)	170 (92,39%)	179(97,28%)
Total	13 (7,06%)	171 (92,93%)	184 (100%)

χ^2 c/ Yates= 31,004 p= 2,6 X 10⁻⁶g.L=1

Dos resultados gerais foram excluídas as amostras contaminadas, totalizando 171 amostras. A positividade no LSSLJ foi de 22 amostras (12,86%) e do Ogawa-Kudoh de 45 amostras (26,31%), havendo discordância em 29 (16,95%), sendo 26 amostras consideradas negativas no LSSLJ e apenas 3 amostras negativas no O-K. Portanto, o método O-K recuperou 26 amostras negativas do LSSLJ, mostrando um valor extremamente significativo com o valor de p=0,0000 e o valor de Kappa = 0,48 (tabela 3).

Tabela 3-Resultados comparativos do meio Ogawa-Kudoh e do meio Lowenstein-Jensen sem amostras contaminadas

	LSSLJ Positivo	LSSLJ Negativo	TOTAL
O-K Positivo	19 (11,12%)	26 (15,20%)	45 (26,32%)
O-K Negativo	3 (1,75%)	123 (71,93%)	126 (73,68%)
TOTAL	22 (12,87%)	149 (87,13%)	171 (100%)

χ^2 c/ Yates = 43,463 p = 0,0000 K= 0,48; O-K: Ogawa-Kudoh ; LJ: Lowenstein Jensen

Os cálculos estatísticos demonstraram sensibilidade de 82,36% no O-K e de 42,22% no LSSLJ. Já a especificidade foi 82,55% no O-K e de 97,61% no LSSLJ. A acurácia foi de 83,04% nos dois métodos.

Foram analisados os tempos de crescimento das culturas para detecção do *M.tuberculosis* nas amostras totais. A média de crescimento foi de 22,65 dias no O-K e 22,07 dias no LSSLJ.

DISCUSSÃO

Os métodos bacteriológicos (baciloscopia e cultura) ainda são prioritários para o diagnóstico da tuberculose, pois permitem a identificação do bacilo, estabelecendo a etiologia da doença, ocupando um papel de fundamental importância na luta contra a tuberculose.

Apesar de existirem técnicas diagnósticas mais modernas, ainda é aconselhável utilizar as estabelecidas, pois as novas, em particular a biologia molecular, requer tecnologia sofisticada e recursos elevados, fatores geralmente ausentes nas regiões de alta prevalência da tuberculose. Portanto, o exame bacteriológico como a cultura, ainda é o padrão ouro para o isolamento das micobactérias e para a avaliação de testes diagnósticos (NOGUEIRA et al., 2000).

Segundo o Ministério da Saúde a cultura é o método bacteriológico que está indicado para o diagnóstico das formas paucibacilares da tuberculose pulmonar e deve ser usada também rotineiramente em todas as formas extrapulmonares para o diagnóstico das micobacterioses e nos serviços que recebam material para o diagnóstico de pacientes co-infectados com vírus HIV (BRASIL, 2007).

Através da observação da Tabela 1 que apresenta a relação entre os resultados das baciloscopias utilizando a técnica de Ziehl-Neelsen e as culturas executadas pelas técnicas O-K e LSSLJ verifica-se que a técnica de O-K apresentou vantagens em relação a LSSLJ .

Nas amostras consideradas paucibacilares, (baciloscopia negativa e cultura positiva) verificou-se que apesar do método Ogawa-Kudoh não utilizar a etapa de concentração de bacilos pelo processo de centrifugação, este método apresentou maior sensibilidade, 15 (10,34%) enquanto que no LSSLJ 6 (4,13%). Concluiu-se que, somente a baciloscopia não contribui para definir se uma amostra é positiva para micobactérias, bem como a eficácia do Método de Ogawa-Kudoh para o diagnóstico laboratorial da tuberculose. Resultados semelhantes quanto a eficácia do Ogawa-Kudoh em relação aos paucibacilares foram confirmados por Ribeiro *et al.* (2005) analisou a utilização do método O-K em quatro Estados do Brasil para os pacientes diagnosticados como casos de tuberculose pulmonar em 2004. No Espírito Santo (ES), foram diagnosticados 79 pacientes, em Mato Grosso do Sul (MS) foram

diagnosticados 51 pacientes, no Rio Grande do Sul (RS) diagnosticou-se 87 pacientes e em São Paulo (SP) diagnosticaram-se 936 pacientes. A positividade de cultura para os casos de baciloscopia positivas e negativas foi de 75% e 23% (ES); 70% e 25% (MS); 71% e 25% (RS) e 73% e 23% (SP), respectivamente.

A contaminação das culturas é fator preponderante para alteração de resultados e deve ser levada em consideração de forma tal, que cuidados sejam tomados para reduzir ao mínimo possível à proporção de culturas contaminadas (FARACHE *et al.*, 1999).

A tabela 2 demonstra que o método Ogawa-Kudoh apresentou um índice de contaminação de 2,72%, níveis aceitos pela Organização Mundial de Saúde, 1998. O método LSSLJ, apresentou um maior índice de contaminação (7,06%). Resultados semelhantes foram encontrados por Ribeiro FH. *et al.*, (2006), que estudaram 210 amostras de escarro de pacientes suspeitos de tuberculose, e encontraram diferenças significativas na taxa de contaminação dos métodos (O-K = 1,9%, LSSLJ = 22,4%). Parimango Rodriguez *et al.*, (2007) dos 46 cultivos positivos em Löwenstein – Jensen, 03 cultivos (6.52%) apresentaram contaminação, no entanto, no meio Ogawa, não se registrou contaminação. Estas informações evidenciam que o método Ogawa-Kudoh é mais eficiente no isolamento de micobactérias.

Outro aspecto importante a ser considerado está relacionado ao tempo gasto por cada processo de descontaminação. Pelo método Ogawa-Kudoh o tempo gasto desde a tomada da amostra no recipiente de coleta, passando pelo processo de descontaminação até a semeadura na superfície do meio sólido, não irá ultrapassar 3 minutos por amostra. É necessário um tempo maior para o técnico manipular a amostra pelo método LSSLJ. Na etapa de centrifugação pode aumentar o risco de rompimento ou abertura dos tubos na centrifuga. Além disso, a transferência do conteúdo do recipiente plástico de coleta da amostra para o tubo de ensaio, aumenta o risco de contaminação para o manipulador e ambiente.

Na tabela 3, os resultados positivos da análise das 184 amostras foram estatisticamente significantes, com percentuais de positividade de 26,32% para cultura no método O-K e de 12,87% pelo método LSSLJ. Isto mostra que a técnica de descontaminação e cultura O-K permitiram maior descoberta de casos positivos que a técnica LSSLJ. No entanto, outros estudos não obtiveram resultados tão diferentes quanto os nossos: Farache *et al.*, (1999) obtiveram um total de 29 (6,97%) amostras positivas em O-K contra 27 (6,49%) positivas em PLJ, igualmente Ribeiro FH. *et al.*, (2006) observou uma taxa de positividade no método O-K de 10,9% e LSSLJ de 7,7%. No nosso estudo, este resultado pode ser devido ao cultivo

pelo LSSLJ em Rondônia ter-se iniciado há pouco tempo e existirem ainda algumas carências ao desenvolvimento do método no LACEN –RO .

Verificando a sensibilidade (S) e especificidade (E) da técnica O-K em relação ao LSSLJ, o método Ogawa-Kudoh apresentou uma taxa satisfatória do teste, 82,36% e 82,55% respectivamente. De acordo com Coelho *et al.*, (1999) que avaliaram o método de O-K para isolamento de micobactérias, encontraram em seus resultados uma taxa de sensibilidade (79%) e especificidade (94%).

O LACEN é o único laboratório responsável no Estado pela realização da cultura, tanto para diagnóstico como para o controle da tuberculose. No entanto, observou-se que durante este estudo, dos 52 municípios do Estado de Rondônia apenas 4 (quatro) enviaram amostras para cultivo.

As amostras analisadas foram provenientes dos municípios de Cacoal, Guajará Mirim, Ji-Paraná e Porto Velho. Isto indica que no interior a doença não está sendo bem caracterizada, não existindo controle para sua disseminação.

CONCLUSÃO

Este estudo se propôs a analisar a técnica de O-K aqui no Estado, para sensibilização junto a Coordenação Estadual de Controle da Tuberculose de Rondônia, para implantação deste método em Unidades de Saúde no interior do Estado, sobretudo em municípios considerados prioritários. Por ser uma técnica simples e possível de ser executada em áreas de difícil acesso, carentes de recursos tecnológicos e humanos especializados em laboratórios e em técnicas mais sofisticadas.

Outro aspecto importante é a possibilidade de execução da cultura a partir de pequena porção de amostra e o menor risco de contaminação do profissional. Permite assim o encaminhamento das amostras já cultivadas para o centro de Referência Estadual para ser feita a identificação e o teste de sensibilidade se necessário, como também outros estudos adicionais. Em suma, o método Ogawa-Kudoh embora seja um método manual, é relativamente rápido (22,65 dias), com baixa contaminação, com elevada positividade e sensibilidade.

Os resultados obtidos neste experimento reforçam a idéia de que o método simplificado O-K pode substituir o método LSSLJ sem prejuízos para a busca de casos no

Programa de Controle da Tuberculose , principalmente em laboratórios com baixos recursos financeiros e tecnológicos.

REFERÊNCIAS

AYRES M, Ayres Jr. M, Ayres DL and Santos AS. BioEstat 2.0: **Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: CNPq; 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília :Ministério da Saúde, 2008 .

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE-Vigilância Epidemiológica-PNCT. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=21445 . Acesso em: 09 nov 2007.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. Brasília:Ministério da Saúde, 2005-a.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Centro de Referência Prof. Hélio Fraga. **Manual de bacteriologia da Tuberculose**. 3. ed. Rio de Janeiro, 2005-b.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. Brasília:Ministério da Saúde, 2002.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional da Saúde. Centro de Referência Prof. Hélio Fraga. **Manual de bacteriologia da Tuberculose**. 2. ed. Rio de Janeiro, 1994.

COELHO, AGV. *et al.* Avaliação do método de Ogawa-Kudoh para o isolamento de micobactérias. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 58, n. 2, p. 57-61, 1999.

Farache Filho, A.; Niero, R.; Duque, J.G. 1999. Emprego de técnica de cultura simplificada para diagnóstico bacteriológico da tuberculose pulmonar em saúde pública. **Rev. Ciênc. Farmac.**, 20:59-75.

KUDOH, S.; KUDOH, T. A simple technique for culturing tubercle bacilli. *Bull. World. Org., Santé*, v. 51, p. 71-82, 1974.

MASCARENHAS, MDM; MENDES, MA; GOMES, KRO. Perfil epidemiológico da tuberculose entre casos notificados no município de Piripiri, Estado do Piauí, Brasil. **Revista do Sistema Único de Saúde do Brasil**, v. 14, n. 1, p. 7-14, 2005. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=21445 > Acesso em: 12 Out. 2007

NOGUEIRA, PA. et al. Análises dos resultados de exames de escarros, provenientes de unidades de saúde, hospitais e presídios do município de São Paulo, para o diagnóstico da tuberculose. **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 9, n. 4, p. 263-271, 2000.

PARIMANGO RODRIGUEZ, Diana, CHAVEZ CASTILLO, Milciades, LUJAN VELASQUEZ, Manuela *et al.* **Comparación de los medios Ogawa y Löwenstein-Jensen en el aislamiento de Mycobacterium tuberculosis de pacientes con tuberculosis pulmonar. Hospital Regional Docente de Trujillo, Perú.** *Rev. Med. Vallejana*, 2007, vol.4, no.1, p.24-31. ISSN 1817-2075.

PEDRO, HSP. *et al.* Ovo desidratado para substituir ovo “in natura” na preparação do meio Löwenstein-Jensen para cultivo de micobactérias. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 60(2), p. 125-128, 2001.

PEREIRA, MG. **Epidemiologia: teoria e prática.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

RIBEIRO, FH. et al. Comparação do método de Ogawa Kudoh com os métodos de Lauril sulfato de sódio e Fosfato Trisódico para cultivo de micobactérias. In: ENCONTRO NACIONAL DA TUBERCULOSE, II, 2006, São Paulo. Pôster. Núcleo de Doenças Infecciosas-UFES; LACEN-ES; CGLAB-MS, Vol. 32 - Supp. 3, 2006.

RIBEIRO, MO. et al. Contribuição da Cultura para o Diagnóstico da Tuberculose Pulmonar Usando o Método Ogawa-Kudoh em Quatro Estados do Brasil. In: CONGRESSO DE MICROBIOLOGIA – SIMPÓSIO DE MICOBACTÉRIAS –2005 IPB-LACEN/RS;LACEN-ES -Núcleo de Doenças Infecciosas-UFES;LACEN-MS; IAL – Instituto Adolfo Lutz-SP.2005.

SUSEMIHL, MAA.MM. *et al.* Avaliação do método de Ogawa-Kudoh para o cultivo de micobactérias. **Rev. Bras.Patol. Clín.**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 2, p. 51-54, 1993.

TAKAO, EKH. et al. Comparação de métodos de cultivo para o diagnóstico laboratorial da tuberculose pulmonar. **Acta Sci. Health Sci. Maringá**, v. 27, n. 2, p. 183-188, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Laboratory Services in Tuberculosis Control, Part III: Culture.** Geneva, Switzerland: WHO. 1998.

ROSSANA C. Jaspe; YEIMY M. Rojas; LALIS A. Flores; *et.al.*, Evaluation of the Kudoh swab method for the culturing of Mycobacterium tuberculosis in rural areas Tropical. **Medicine and International Health** doi:10.1111/j.1365-3156.2009.02236. volume 14 n. 4 p. 468–47, 2009