

Como citar este artigo:

Costa RR, Silva SF, Fochat RC, Macedo RL, Pereira TV, Silva MR, et al. Comparação entre os métodos de Ogawa-Kudoh e Petroff modificado para o cultivo de micobactérias no diagnóstico da tuberculose pulmonar. *einstein* (São Paulo). 2018;16(2):eAO4214.

Autor correspondente:

Ronaldo Rodrigues da Costa
Rua Catulo Brevigliere, s/n – Jardim Glória
CEP: 36036-110 – Juiz de Fora, MG, Brasil
Tel.: (32) 4009-5121
E-mail: ronaldorodrigues.costa@ufjf.edu.br

Data de submissão:

23/7/2017

Data de aceite:

17/1/2018

Conflitos de interesse:

não há.

Copyright 2018



Esta obra está licenciada sob
uma Licença *Creative Commons*
Atribuição 4.0 Internacional.

ARTIGO ORIGINAL

Comparação entre os métodos de Ogawa-Kudoh e Petroff modificado para o cultivo de micobactérias no diagnóstico da tuberculose pulmonar

Comparison between Ogawa-Kudoh and modified Petroff techniques for mycobacteria cultivation in the diagnosis of pulmonary tuberculosis

Ronaldo Rodrigues da Costa^{1,2}, Suzane Fernandes da Silva², Romário Costa Fochat², Raquel Leite Macedo², Thamiris Vilela Pereira², Marcio Roberto Silva³, Carmen Perches Gomide Pinto², Isabel Cristina Gonçalves Leite⁴

¹ Hospital Regional João Penido, Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais, Juiz de Fora, MG, Brazil.

² Hospital Universitário, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil.

³ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil.

⁴ Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil.

DOI: 10.1590/S1679-45082018A04214

RESUMO

Objetivo: Comparar o desempenho do método de Ogawa-Kudoh ao de Petroff modificado no diagnóstico da tuberculose pulmonar. **Métodos:** Utilizaram-se 205 amostras de escarro de 166 pacientes com suspeita clínica ou controle de tuberculose pulmonar atendidos em um hospital público terciário, entre os meses de julho de 2014 a julho de 2016. Todas as amostras foram processadas simultaneamente pelos métodos de descontaminação Ogawa-Kudoh e Petroff modificado, seguindo as recomendações do Ministério da Saúde. Na análise estatística, foi empregado o teste de McNemar, para comparação de proporções, e o índice Kappa, para verificar o grau de concordância entre os dados. **Resultados:** Os métodos Ogawa-Kudoh e Petroff modificado mostraram-se eficientes na detecção de micobactérias, não sendo verificadas discordâncias significativas tanto nas comparações de pares de resultados ($p=0,549$), como na taxa de contaminação das culturas ($p=0,065$). O grau de concordância das técnicas foi considerado excelente (índice Kappa de 0,877), e o Ogawa-Kudoh, em relação ao Petroff modificado, apresentou 90,4% de sensibilidade, 96,6% de especificidade, 94,3% de valor preditivo positivo e 94,2% de valor preditivo negativo. **Conclusão:** O método de Ogawa-Kudoh revelou-se suficientemente sensível e específico para o diagnóstico da tuberculose pulmonar e, portanto, adequado para a aplicação na rotina laboratorial. Por ser mais simples, de baixo custo e com menores exigências técnicas de biossegurança e capacitação profissional, o Ogawa-Kudoh apresenta-se como alternativa para gestores e profissionais da área promoverem a ampliação da cobertura diagnóstica bacteriológica da tuberculose pulmonar.

Descritores: Ogawa-Kudoh; Petroff; Tuberculose pulmonar/diagnóstico; *Mycobacterium tuberculosis*; Escarro; Cultura

ABSTRACT

Objective: To compare the performance of the Ogawa-Kudoh method with the modified Petroff technique in diagnosis of pulmonary tuberculosis. **Methods:** A total of 205 sputum samples from 166 patients with clinical suspicion or under pulmonary tuberculosis follow-up, seen at a public

tertiary care hospital, from July 2014 to July 2016 were used. All samples were simultaneously processed using the Ogawa-Kudoh and modified Petroff decontamination methods, according to the recommendations of the Ministry of Health. In the statistical analysis, the McNemar test and the Kappa index were used, respectively, to compare proportions and verify agreement between data. **Results:** The Ogawa-Kudoh and modified Petroff methods were efficient in mycobacteria detection, with no significant differences in results ($p=0.549$) and contamination rate of the cultures ($p=0.065$). The agreement between techniques was considered excellent (Kappa index of 0.877) and Ogawa-Kudoh, as compared to the modified Petroff technique, showed sensitivity of 90.4%, specificity of 96.6%, positive predictive value of 94.3% and negative predictive value of 94.2%. **Conclusion:** The Ogawa-Kudoh technique proved to be sufficiently sensitive and specific for diagnosis of pulmonary tuberculosis, and, therefore, suitable for routine laboratory application. Since it is simple, low-cost and has less technical requirements for biosafety and professional training, Ogawa-Kudoh is an alternative for managers and healthcare professionals to promote the expansion of bacteriological diagnostic coverage of pulmonary tuberculosis.

Keywords: Ogawa-Kudoh; Petroff; Tuberculosis, pulmonary/diagnosis; *Mycobacterium tuberculosis*; Sputum; Culture

INTRODUÇÃO

A epidemia de tuberculose (TB) é maior do que previamente anunciada, embora o número de mortes e sua incidência venham se reduzindo globalmente. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2015, foram estimados 10,4 milhões de novos casos ao redor do mundo e, aproximadamente, 1,4 milhão de mortes. O Brasil ocupa posição de destaque nesse cenário; está na 16ª colocação em números absolutos (81.137 casos notificados em 2015) e na 20ª em relação à incidência (41,0/100 mil habitantes), considerando a lista dos 20 países responsáveis por, aproximadamente, 84,0% da carga mundial de TB.⁽¹⁾

Para que sejam alcançadas as metas propostas pelo relatório *Global End Tuberculosis Strategy*⁽²⁾ da OMS (redução de 95,0% do número absoluto de mortes por TB e de 90,0% da taxa de incidência até 2.035, comparados com dados do ano de 2015), é essencial que o diagnóstico ocorra de forma rápida e precisa. A clínica e as alterações radiológicas podem fornecer fortes indícios da doença, porém o diagnóstico definitivo é alcançado, verificando-se a presença do agente etiológico em amostras respiratórias ou provenientes de outros sítios.^(3,4)

A cultura ainda é considerada padrão-ouro no diagnóstico das infecções micobacterianas.^(1,3) Um resultado de cultura positivo, mesmo em casos assintomáticos ou com radiografia de tórax normal, permite definir o diagnóstico de TB, uma vez excluída qualquer possibilidade de contaminação da amostra. Trata-se de um método de elevadas especificidade e sensibilidade, que, compara-

do ao diagnóstico exclusivo por baciloscopia, pode aumentar em até 30,0% o diagnóstico bacteriológico da doença, além de permitir a posterior identificação da micobactéria isolada e testes de suscetibilidade a antimicrobianos.⁽⁵⁾ No entanto, antes da semeadura, é necessário um tratamento prévio das amostras de sítios não estéreis para eliminação de microrganismos de microbiota natural e do ambiente, favorecendo o crescimento e o isolamento das micobactérias.⁽⁶⁾

O método de Petroff modificado é o padrão para realizar a descontaminação das amostras, sendo empregado o meio de cultura sólido Löwenstein Jensen para semeadura. Trata-se, porém, de um método de muitas etapas e que requer maior tempo de execução, e uso de centrífuga refrigerada e de cabine de segurança biológica.⁽⁶⁾ As demandas e os custos de uma infraestrutura técnica de maior porte e de uma equipe capacitada, associados às limitações orçamentárias dos sistemas de saúde do Brasil e de outros países emergentes, podem constituir barreiras para a realização do exame.^(7,8) Segundo dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) e do Sistema de Informação de Mortalidade (SIM), entre 2002 e 2009, a cultura de escarro foi realizada somente em 12,9% dos casos notificados no Estado de Minas Gerais, Brasil.⁽⁹⁾

Assim, o desenvolvimento e/ou o uso de metodologias mais simples, de menor custo e igual sensibilidade na etapa de descontaminação das amostras para posterior semeadura aumentariam a possibilidade de realização de cultivos na rotina laboratorial de diferentes regiões e, conseqüentemente, a cobertura diagnóstica da TB. Neste sentido, o método de Ogawa-Kudoh é simplificado para descontaminação, durando de 3 a 4 minutos, e dispensando a etapa de centrifugação e o uso de cabine de segurança biológica, sendo considerado, assim, econômico.⁽⁶⁾ O Ministério da Saúde propôs a utilização do método de Ogawa-Kudoh para realização de culturas, sendo oferecido suporte técnico, financeiro e capacitações em algumas capitais ou municípios estratégicos.⁽⁵⁾

OBJETIVO

Comparar o desempenho do método de Ogawa-Kudoh ao de Petroff modificado em amostras de escarro de pacientes com tuberculose, e verificar se o método Ogawa-Kudoh é adequado para a realidade e o perfil da doença.

MÉTODOS

Na Zona da Mata Mineira, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil é considerada uma cidade-polo e um município estratégico.^(10,11) O estudo foi conduzido em um hospital

público terciário, referência no tratamento de TB nesta região. Foram avaliadas 205 amostras de escarro de 166 pacientes com suspeita clínica ou controle de TB pulmonar, atendidos na instituição entre os meses de julho de 2014 a julho de 2016. O protocolo da pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG), sob o parecer número 816.628/2014, CAAE: 36661114.0.0000.5119.

Cada amostra foi dividida em duas alíquotas iguais para a realização simultânea dos métodos de Petroff modificado e Ogawa-Kudoh, conforme recomendações do Ministério da Saúde.⁽⁶⁾ Foram preparadas, para cada amostra, duas lâminas, sendo uma para avaliar a qualidade do escarro (técnica de coloração de Gram) e outra para pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes (técnica de coloração de Ziehl-Neelsen).

Para a descontaminação das amostras pelo método de Ogawa-Kudoh, um *swab* de algodão foi introduzido na parte mais purulenta do escarro e, em seguida, submergido em solução de hidróxido de sódio (NaOH) 4% por 2 minutos. O excesso de NaOH 4% foi retirado por compressão do *swab* contra a parede do frasco e, em seguida, foi realizada a semeadura, em duplicata, no meio de Ogawa-Kudoh (meio levemente acidificado, pH 6,4).

Para a descontaminação pelo Petroff modificado, 2mL do escarro foram transferidos para um tubo tipo Falcon. O mesmo volume de solução NaOH 4% foi acrescentado ao tubo, e a mistura foi homogeneizada e colocada durante 15 minutos à temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$ para fluidificação-descontaminação. Posteriormente, foram adicionados 4mL de água destilada estéril e foi gotejada a solução neutralizante até a visualização da mudança de cor – de rosa para amarelo âmbar. Após essa etapa, a solução resultante foi centrifugada a 3.000 rotações por minuto (rpm), durante 15 minutos. O sobrenadante foi desprezado em recipiente à prova de respingos, enquanto o sedimento foi homogeneizado, e 0,2mL do mesmo foi inoculado em duplicata no meio Löwenstein Jensen.

Os meios de cultura semeados foram incubados à temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$ e verificados semanalmente. Aqueles com crescimento foram separados para confirmação por baciloscopia, enquanto os demais foram reincubados. Após 60 dias de incubação, não havendo crescimento de microrganismos compatíveis com a morfologia de micobactérias, as culturas foram liberadas negativas. As culturas positivas confirmadas foram encaminhadas à Fundação Ezequiel Dias (FUNED), onde se processou a identificação.

Em relação às análises estatísticas, foram determinados os parâmetros de sensibilidade, especificidade,

valor preditivo positivo e valor preditivo negativo do método Ogawa-Kudoh, tendo como padrão de comparação o método de Petroff modificado. Para comparação das concordâncias entre os métodos, foi utilizado o teste de McNemar, sendo fixado o nível de significância de 0,05. Para verificação de concordância entre os dados, calculou-se o índice Kappa, interpretado conforme a revisão de Sim e Wright. O grau de contaminação dos meios de cultura também foi avaliado em ambas as técnicas. Os cálculos, incluindo a análise estatística descritiva, foram realizados com o auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 14.0.

RESULTADOS

O presente estudo analisou 205 amostras de escarro de 166 pacientes em situação de diagnóstico ou de controle de TB, processadas, simultaneamente, pelos métodos de descontaminação Ogawa-Kudoh e Petroff modificado. Os resultados das culturas encontram-se detalhados na tabela 1, sendo observados os valores de $p=0,549$, para a comparação da concordância dos métodos, e de $p=0,065$, para a comparação das taxas de contaminação das amostras entre os testes. O índice Kappa foi de 0,877. Em relação ao método de Petroff modificado, o de Ogawa-Kudoh apresentou 90,4% de sensibilidade, 96,6% de especificidade, 94,3% de valor preditivo positivo e 94,2% de valor preditivo negativo.

Tabela 1. Culturas de escarro com amostras descontaminadas pelos métodos de Petroff modificado e Ogawa-Kudoh

Resultados das culturas	Petroff modificado n (%)	Ogawa-Kudoh n (%)	Valor de p*
Isolamento de micobactérias [†]	76 (37,1)	71 (34,6)	0,549
Cultura negativa para micobactérias	123 (60,0)	121 (59,0)	
Contaminação da cultura	6 (2,9)	13 (6,4)	0,065

* Teste de McNemar para amostras pareadas, nível de significância de 0,05; [†] identificação das culturas de micobactérias positivas realizadas pela Fundação Ezequiel Dias.

DISCUSSÃO

Neste estudo, o desempenho dos métodos de Ogawa-Kudoh e Petroff modificado foi equivalente, tanto em termos de concordâncias diagnósticas, quanto em taxas de contaminação. Ainda, o índice Kappa indicou alto grau de concordância entre estes métodos. O Ogawa-Kudoh apresentou elevada sensibilidade, especificidade e concordância em relação ao método de Petroff modificado, corroborando dados da literatura,^(8,12-17) com plenas condições de ser importante alternativa para o diagnóstico da TB.

Como os laboratórios clínicos desempenham importante papel no controle de TB, a possibilidade de um diagnóstico rápido, de execução mais simples e de menor custo, como o Ogawa-Kudoh, favorece uma série de atividades que auxiliam na diminuição da propagação da doença.^(7,18,19) A cultura permanece o padrão-ouro para o diagnóstico de TB, apesar de técnicas mais avançadas disponíveis no mercado e, novamente, os laboratórios são fundamentais para avaliar a qualidade da amostra, para melhor desempenho do teste.^(3,6)

A implantação do método de Ogawa-Kudoh, principalmente nas regiões prioritárias e/ou de difícil acesso, foi sugerida por outros estudos, inclusive no contexto de diferentes serviços de atenção à saúde.⁽¹²⁻¹⁷⁾ Takao et al.,⁽¹²⁾ avaliando amostras de escarro de pacientes atendidos em Unidades Básicas de Saúde, constataram que o método de Ogawa-Kudoh, comparado ao de Petroff modificado, mostrou-se eficiente na detecção de *Mycobacterium tuberculosis* e de micobactérias não pertencentes ao complexo *M. tuberculosis*, inclusive em amostras com baciloscopias negativas. Os autores também não detectaram diferenças estatísticas entre a taxa de contaminação observada por ambos os métodos.

Silva et al.,⁽¹³⁾ avaliando o período de 8 anos de utilização do método de Ogawa-Kudoh na rotina de um laboratório de referência na região noroeste do Estado do Paraná, obtiveram resultados que permitiram concluir que a técnica representa excelente ferramenta para o diagnóstico precoce da TB pulmonar. Estudos de outros países, como os conduzidos na Venezuela, no Uruguai e na Gâmbia, também demonstraram resultados satisfatórios e adequação do método de Ogawa-Kudoh às necessidades e à infraestrutura desses diferentes locais.⁽¹⁴⁻¹⁶⁾

Em outros trabalhos, o método de Ogawa-Kudoh também foi comparado com outras formas de pré-tratamento das amostras. Palaci et al.,⁽⁸⁾ constataram 94,8% de sensibilidade e 99,8% de especificidade do método de Ogawa-Kudoh com base nos casos confirmados pelas culturas processadas com N-acetil-L-cisteína-hidróxido de sódio (NALC-NaOH) e semeadas em Löwenstein Jensen. Ainda, a cultura por Ogawa-Kudoh contribuiu significativamente no diagnóstico da TB pulmonar em quatro diferentes regiões do Brasil (São Paulo, Espírito Santo, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul).⁽⁸⁾ Oliveira et al.,⁽¹⁷⁾ obtiveram resultados que permitiram concluir que o Ogawa-Kudoh pode substituir o método lauril sulfato de sódio/Löwenstein Jensen sem prejuízos para a busca de casos no Programa Nacional de Controle da Tuberculose no Estado de Rondônia, MT, Brasil.

Quanto ao meio empregado, atualmente ele é comercializado pronto para uso no Brasil, sendo inclusive fornecido pelo Ministério da Saúde, que preconiza sua

utilização em busca de descentralizar o diagnóstico da TB, para ampliar a realização de cultura de amostras pulmonares, e favorecer o diagnóstico e, consequentemente, o controle da doença, principalmente por possibilitar que laboratórios menores, com estruturas menos sofisticadas, tenham condições de realizar este exame – o que não seria possível pela técnica da centrifugação.⁽¹⁹⁾

Apesar do método de Ogawa-Kudoh ser conhecido, ainda não é explorado como poderia. Trabalhos que mostram sua viabilidade, inclusive em regiões de referência, podem contribuir para sua maior utilização. A verificação de sua reprodutibilidade e sua eficácia em diferentes regiões, em contextos distintos de tipos e níveis de serviço de saúde ou população, é de suma importância para a consolidação da técnica e para que gestores tenham mais evidências e respaldos para suas decisões de implementação no serviço.

Embora existam, na literatura, trabalhos comparativos entre as técnicas, ainda não há uma discussão conclusiva. Por tal fato e pela importância da TB no contexto da saúde pública mundial, os autores entendem que o presente artigo ainda traz novidade.

A instituição, no âmbito da Zona da Mata Mineira, apresenta-se como um centro de referência no tratamento da TB, constituindo-se em um importante local de estudo dessa doença. Ainda, essas informações são relevantes e estratégicas para gestores, profissionais da saúde e especialistas no assunto respaldarem suas decisões por um método de descontaminação que permita alcançar maior cobertura diagnóstica laboratorial da TB pulmonar, podendo ser útil para subsidiar a decisão do Ministério da Saúde na ampliação do uso do método em questão.

CONCLUSÃO

O método Ogawa-Kudoh foi eficiente na detecção de micobactérias, comparado com Petroff modificado, não sendo verificadas discordâncias significativas nas comparações de pares tanto de resultados dos testes, como de viabilidade dos isolamentos (ausência de contaminação). O grau de concordância das técnicas foi considerado excelente. Os achados deste estudo são aplicáveis às demandas dos pacientes da região, sendo extrapoláveis para outras populações de pacientes de localidades variadas.

AGRADECIMENTOS

À Plast Labor Microbiologia, pelo fornecimento de parte dos kits de Ogawa, utilizados neste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report 2016. Geneva: WHO; 2016.
2. Uplekar M, Weil D, Lonroth K, Jaramillo E, Lienhardt C, Dias HM, Falzon D, Floyd K, Gargioni G, Getahun H, Gilpin C, Glaziou P, Grzemska M, Mirzayev F, Nakatani H, Raviglione M; for WHO's Global TB Programme. WHO's new end TB strategy. *Lancet*. 2015;385(9979):1799-801.
3. Sulis G, Centis R, Sotgiu G, D'Ambrosio L, Pontali E, Spanevello A, et al. Recent developments in the diagnosis and management of tuberculosis. *NPJ Prim Care Respir Med*. 2016;26:16078. Review.
4. Conde MB, Melo FA, Marques AM, Cardoso NC, Pinheiro VG, Dalcin Pde T; Machado Junior A, Lemos AC, Netto AR, Durovni B, Sant'Anna CC, Lima D, Capone D, Barreira D, Matos ED, Mello FC, David FC, Marsico G, Afiune JB, Silva JR, Jamal LF, Telles MA, Hirata MH, Dalcolmo MP, Rabahi MF, Cailleaux-Cesar M, Palaci M, Morrone N, Guerra RL, Dietze R, Miranda SS, Cavalcante SC, Nogueira SA, Nonato TS, Martire T, Galesi VM, Dettoni Vdo V; Committee on Tuberculosis; BTA Guidelines on Tuberculosis Work Group. III Brazilian Thoracic Association Guidelines on Tuberculosis. *J Bras Pneumol*. 2009;35(10):1018-48. Review.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2011. p. 284. [Série A. Normas e Manuais Técnicos].
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2008. p. 436. [Série A. Normas e Manuais Técnicos].
7. Parsons LM, Somoskövi A, Gutierrez C, Lee E, Paramasivan CN, Abimiku A, et al. Laboratory diagnosis of tuberculosis in resource-poor countries: challenges and opportunities. *Clin Microbiol Rev*. 2011;24(2):314-50. Review.
8. Palaci M, Peres RL, Maia R, Cunha EA, Ribeiro MO, Lecco R, et al. Contribution of the Ogawa-Kudoh swab culture method to the diagnosis of pulmonary tuberculosis in Brazil. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2013;17(6):782-6.
9. Augusto CJ, Carvalho Wda S, Gonçalves AD, Ceccato Md, Miranda SS. Characteristics of tuberculosis in the state of Minas Gerais, Brazil: 2002-2009. *J Bras Pneumol*. 2013;39(3):357-64.
10. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema Nacional de Vigilância em Saúde: relatório de situação. Minas Gerais. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2005. p. 34. [Série C. Projetos, Programas e Relatórios].
11. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Panorama da tuberculose no Brasil. Indicadores epidemiológicos e operacionais. Região Sudeste. Minas Gerais. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2014. p. 92.
12. Takao EK, Nocchi SR, Siqueira VL, Cardoso MA, Peron ML, Calfei KR, et al. Comparação de métodos de cultivo para o diagnóstico laboratorial da tuberculose pulmonar. *Acta Sci Health Sci*. 2005;27(2):183-8.
13. Silva FS, Castilho AL, Maltempe FG, Pina RZ, Takao EK, Siqueira VL, et al. Use of the Ogawa-Kudoh method to isolate mycobacteria in a tuberculosis reference laboratory in northwestern Paraná, Brazil. *Bras J Pharm Sci*. 2013; 49(3):567-70.
14. Jaspe RC, Rojas YM, Flores LA, Sofia Toro E, Takiff H, de Waard JH. Evaluation of the Kudoh swab method for the culturing of *Mycobacterium tuberculosis* in rural areas. *Trop Med Int Health*. 2009;14(4):468-71.
15. Rivas C, Coitinho C, Dafond V, Corbo M, Baldjian M. Performance of the Ogawa-Kudoh method for isolation of mycobacteria in a laboratory with large-scale workload. *Rev Argent Microbiol*. 2010;42(2):87-90.
16. Jobarteh T, Otu J, Gitte E, Mendy F, Faal-Jawara TI, Ofori-Anyinam B, et al. Evaluation of the Kudoh method for mycobacterial culture: Gambia experience. *Int J Mycobacteriol*. 2016;5 Suppl 1:S166.
17. Oliveira MS, Lima CA, Moura MM. [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]. *Rev Pesquisa Criação*. 2011;10(2):127-37. Portuguese.
18. Procop GW. Laboratory Diagnosis and Susceptibility Testing for *Mycobacterium tuberculosis*. *Microbiol Spectr*. 2016;4(6). Review. doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0022-2016.
19. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Tuberculose – 2015: Detectar, tratar e curar: desafios e estratégias brasileiras frente à tuberculose. *Boletim Epidemiológico*. 2015;46(9):1-19.