



# Tuberculose pulmonar paucibacilar em Centros de Detenção Provisória

## Paucibacillary pulmonary tuberculosis in Provisional Detention Centers

RIALA6/1687

Maria Cecília CERGOLE-NOVELLA<sup>1\*</sup>, Andréia Moreira dos Santos CARMO<sup>1</sup>, Alexandra Alves dos Anjos REDONDARO<sup>1</sup>, Valéria dos Santos CANDIDO<sup>1</sup>, Mara Cristina de Souza BUZON<sup>1</sup>, Ana Paula da Cunha GONÇALVES<sup>1</sup>, Érica CHIMARA<sup>2</sup>, Regina Ruivo Ferro e SILVA<sup>1</sup>

\*Endereço para correspondência: <sup>1</sup>Centro de Laboratório Regional de Santo André, Instituto Adolfo Lutz. Avenida Ramiro Colleoni, 240, Vila Dora, Santo André, SP. CEP 09040-160. Tel: 11 4990 1267. E-mail: mcecilia@ial.sp.gov.br

<sup>2</sup>Centro de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz. São Paulo, SP, Brasil

Recebido: 24.09.2015 - Aceito para publicação: 23.12.2015

### RESUMO

Cultura de micobactérias proporciona o crescimento de bacilos viáveis, mesmo presentes em escassa quantidade e não detectados pela baciloscopia. Neste estudo foram analisadas as amostras de escarro que apresentaram baciloscopia negativa e cultura positiva. As amostras foram coletadas de 2008 a 2013, de indivíduos detidos em Centros de Detenção Provisória de Santo André, Mauá e Diadema, Estado de São Paulo. As metodologias utilizadas foram baciloscopia por coloração Ziehl-Neelsen e cultura pelo Sistema BACTEC MGIT 960 e Ogawa-Kudoh. Dos 11.529 exames realizados, 221 (1,9 %) apresentaram baciloscopias negativas e culturas positivas. Dos 221 isolados, 166 (75,1 %) pertenciam ao Complexo *Mycobacterium tuberculosis*, 21 (9,5 %) micobactérias não membros do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MNT), 33 (14,9 %) *Mycobacterium* sp e uma cultura mista do Complexo *M. tuberculosis* e *M. avium*. MNT mais frequentes foram *M. avium* (23,8 %) e *M. fortuitum* (19,0 %). A maioria dos isolados do Complexo *M. tuberculosis* (155/166 - 93,4 %) foi sensível aos antimicrobianos. Sete amostras apresentaram resistência à isoniazida e uma apresentou multirresistência à isoniazida e rifampicina. Este estudo mostra a importância da realização da cultura em escarros que apresentam baciloscopia negativa no diagnóstico da TB e micobacteriose. O tratamento tardio causa a continuidade da transmissão da doença e agravamento do quadro clínico.

**Palavras-chave.** tuberculose, prisões, baciloscopia, técnicas de cultura, escarro.

### ABSTRACT

Culture of mycobacteria induces the growth of viable bacillus occurring in small quantity, which are not detectable by bacilloscopy. This study aimed at identifying the mycobacteria isolates from sputum presenting negative bacilloscopy and positive culture. The samples were collected from 2008 to 2013 from criminals of Provisional Detention Centers in Santo André, Mauá and Diadema/SP. Smears were stained by Ziehl-Neelsen staining and the cultures were performed by the BACTEC MGIT 960 system and Ogawa-Kudoh culture medium. Of 11,529 isolates, 221 (1.9 %) showed negative bacilloscopy and positive cultures. Of 221 isolates, 166 (75.1 %) belonged to *Mycobacterium tuberculosis* complex, 21 (9.5 %) were nontuberculous mycobacteria (NTM), 33 (14.9 %) *Mycobacterium* sp, and one identified as a mixed culture of *M. tuberculosis* and *M. avium* complex. The most common NTM species were *M. avium* (23.8 %) and *M. fortuitum* (19.0 %). Most of the isolates (155/166-93.4 %) were susceptible to antimicrobial agents. Seven samples were resistant to isoniazid, and one presented multiresistance to isoniazid and rifampicin. This study shows the importance in performing sputum culture, when these samples are negative on bacilloscopy in diagnosing TB and mycobacteriosis. The treatment delay results in the maintenance of disease transmission and worsening of clinical symptoms.

**Keywords.** tuberculosis, prisons, smear, culture techniques, sputum.

## INTRODUÇÃO

A tuberculose é uma doença pulmonar ou laríngea transmitida por via aérea em praticamente todos os casos<sup>1</sup>. Uma das medidas para o controle da tuberculose é a investigação de populações com elevado risco de contrair a doença, como as populações privadas de liberdade. Por causa das condições precárias dos centros de detenção e superpopulação de indivíduos privados de liberdade, muitos estudos são realizados na busca ativa de novos casos de tuberculose nessa população<sup>2-4</sup>. No Brasil, a tuberculose é a terceira doença infecciosa que mais leva ao óbito (4800 mortes/ano), 70 mil novos casos descritos no Global Tuberculosis Report 2015<sup>5</sup> e é uma doença endêmica nos presídios brasileiros<sup>6,7</sup>. No entanto, poucos são os estudos no Brasil sobre baciloscopia negativa e cultura positiva no diagnóstico da tuberculose transmitida por micobactérias pertencentes ao Complexo *Mycobacterium tuberculosis* e da micobacteriose causada por micobactérias não membros do Complexo *M. tuberculosis* originando os termos micobactéria não tuberculosa (*nontuberculous mycobacteria*, MNT) e micobactéria outra não tuberculosa (*mycobacteria other than tuberculosis*, MOTT)<sup>8,9</sup>.

Pacientes imunocomprometidos e com baciloscopia negativa, apesar de constituir menor risco de transmissão e mortalidade, apresentam significativa proporção (50 – 71 %) que progride para doença ativa justificando o tratamento<sup>10</sup>. O diagnóstico da tuberculose e a inadequada detecção de novos casos em todo o mundo, especialmente na África e Ásia, são os maiores desafios em países de baixa e média renda<sup>11-13</sup>.

A baciloscopia permanece a mais acessível ferramenta no diagnóstico da doença ativa, porém a cultura é o método de referência padrão-ouro, sensível e específico para o diagnóstico da tuberculose e micobacteriose. Mesmo com o desenvolvimento de modernas técnicas de biologia molecular, nenhum método foi completamente eficiente para substituir a baciloscopia e o olhar do microbiologista<sup>6,7,14,15</sup>. O número mínimo de bacilos álcool-ácido resistentes necessários para produzir um esfregaço com resultado positivo tem sido estimado entre

5000 a 10000 por mililitro<sup>16</sup>, enquanto a detecção de bacilos pela cultura é de 10 a 100 bacilos cultiváveis por mililitro de escarro<sup>17,18</sup>. Devemos levar em consideração erros mais comuns na leitura das baciloscopias, que levam ao resultado falso negativo, como coleta e acondicionamento inadequados das amostras de escarro, utilização da porção não purulenta do escarro, esfregaço com pouca amostra, tempos incorretos nos procedimentos de coloração das lâminas, sobreposição e diminuição do número de campos lidos e até mesmo o uso de microscópio sem condições adequadas de uso e manutenção<sup>10,19</sup>.

A área de abrangência do Centro de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz de Santo André VIII (CLR-IAL Santo André) contempla sete municípios - Santo André, São Bernardo do Campo, São Caetano do Sul, Mauá, Ribeirão Pires, Rio Grande da Serra e Diadema com população total de 2.551.328 habitantes<sup>20</sup>. Nesses municípios há quatro Centros de Detenção Provisória (CDP), todos com superpopulação. O CLR-IAL Santo André realiza cultura de micobactérias isoladas do escarro de indivíduos privados de liberdade no ingresso ou sintomáticos dos CDP de três municípios - Santo André, Mauá e Diadema com superpopulação prisional de 2007 indivíduos e capacidade prisional de 535 indivíduos, 1512/624, e 1634/613, por município respectivamente (Fonte: Secretaria da Administração Penitenciária. SAP - <http://www.sap.sp.gov.br/> em 04/03/2015).

CDP é o presídio do sistema penitenciário destinado a custodiar as pessoas reclusas provisoriamente, enquanto aguardam sentença. A busca ativa de novos casos da tuberculose ocorre desde a admissão do indivíduo no CDP até o recebimento do alvará de soltura ou transferência para outro estabelecimento do sistema penitenciário.

Tendo em vista que nossa maior demanda de cultura de micobactérias vem dos CDP, que não há estudos realizados sobre tuberculose nesses centros e devido à detecção de casos de baciloscopia negativa com cultura positiva, o objetivo deste estudo foi avaliar escarros que apresentaram baciloscopia negativa e cultura positiva de indivíduos privados de liberdade em

Centros de Detenção Provisória dos municípios de Santo André, Mauá e Diadema no estado de São Paulo, entre 2008 e 2013.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostragem

Estudo descritivo utilizando dados da rotina laboratorial a partir de 11.529 amostras de escarros colhidas por expectoração espontânea matutina de indivíduos privados de liberdade (uma amostra de cada indivíduo) do sexo masculino no ingresso ou quando sintomáticos de três Centros de Detenção Provisória situados nos municípios de Mauá, Santo André e Diadema no Estado de São Paulo, Brasil no período de 01 de junho de 2008 a 31 de maio de 2013.

### Crítérios de inclusão e exclusão

As amostras de escarros colhidas do mesmo indivíduo dentro de um intervalo de tempo de 15 dias foram consideradas diagnóstico e incluídas no estudo. As amostras de escarros colhidas do mesmo indivíduo em um espaço de tempo superior a 15 dias foram consideradas controle e excluídas do estudo.

### Baciloscopia

A confecção dos esfregaços de escarros, coloração pelo método de Ziehl-Neelsen e leitura das baciloscopias<sup>19</sup> foram realizados pelos Laboratórios Municipais da Rede do Programa de Controle da Tuberculose do Estado de São Paulo, os quais encaminharam os resultados ao CLR-IAL Santo André. A mesma amostra de escarro foi mantida a 4 °C e transportada ao CLR-IAL Santo André em caixa térmica, para realização da cultura.

### Cultura

As amostras de escarro foram tratadas segundo o método de Petroff modificado<sup>9</sup>. Após o tratamento, a amostra foi semeada em meio de cultura líquido Middlebrook 7H9 utilizando o Sistema BACTEC MGIT 960<sup>21</sup>. Para serem consideradas negativas, as culturas foram mantidas no equipamento por até 42 dias. Para volume de escarro inferior a 1 mL, foi usada a metodologia

de Ogawa-Kudoh<sup>22</sup>. Semanalmente as culturas foram observadas para verificar presença de crescimento. As culturas foram consideradas negativas quando nenhum crescimento foi observado na última leitura após 8 semanas de incubação<sup>19</sup>. A confirmação da presença de crescimento micobacteriano foi feita pela análise microscópica de uma lâmina confeccionada a partir da cultura positiva e corada pelo método de Ziehl Neelsen.

### Identificação

A identificação presuntiva foi realizada pela análise macroscópica da cultura (pigmento e morfologia de cultura) e morfologia microscópica dos bacilos. Os isolados com características pertencentes ao Complexo *M. tuberculosis*, fator corda positivo, com colônia acromógena, geralmente de cor creme, rugosa com aspecto de couve-flor foram submetidos ao teste de suscetibilidade aos fármacos antituberculose (TS) e teste de crescimento em presença de ácido p-nitrobenzóico (PNB). Os isolados sugestivos de MNT, com presença ou não de fator corda, apresentando colônias pigmentadas ou acromógenas, lisas ou rugosas, foram encaminhados ao IAL Central para identificação pelo método PRA-*hsp65* (*Polymerase Chain Reaction Restriction Analysis*)<sup>23,24</sup>.

### Teste de suscetibilidade (TS) do Complexo *Mycobacterium tuberculosis*

Os testes foram realizados pelo Sistema BACTEC MGIT 960 Sensibilidade da Becton e Dickinson<sup>21</sup> com os isolados do Complexo *M. tuberculosis*, negativos para o teste de PNB, obtidos a partir do meio líquido ou sólido. Os fármacos liofilizados foram reconstituídos nas seguintes concentrações: estreptomicina (83 µg/mL), isoniazida (8,3 µg/mL), rifampicina (83 µg/mL) e etambutol (415 µg/mL). Em cada tubo de MGIT foram adicionados 800 µL de suplemento de crescimento (OADC) e 100 µL de cada fármaco chegando à concentração final de estreptomicina (1,0 µg/mL), isoniazida (0,1 µg/mL), rifampicina (1,0 µg/mL) e etambutol (5,0 µg/mL) e 500 µL do inóculo (suspensão bacteriana diluída 1:5). A cepa controle utilizada foi *M. tuberculosis* H37Ra.

## RESULTADOS

Foram processadas 11.529 amostras de escarros para baciloscopia e para cultura nos Laboratórios Municipais da Rede do Programa de Controle da Tuberculose do Estado de São Paulo e o CLR-IAL Santo André, respectivamente, no diagnóstico de novos casos de tuberculose e micobacteriose em indivíduos privados de liberdade (uma amostra de escarro para cada indivíduo) dos CDP de Mauá, Santo André e Diadema.

Durante os cinco anos do estudo, obtivemos baciloscopias negativas ou positivas com culturas negativas, positivas ou contaminadas. Dos 11.529 exames realizados, 221 (1,9 %) apresentaram baciloscopias negativas e culturas positivas, 168 (1,5 %) baciloscopias e culturas positivas, 31 baciloscopias sem resultados informados pelo respectivo Laboratório Municipal, mas com culturas positivas e 11.109 baciloscopias positivas ou negativas com culturas negativas ou contaminadas. Do total das 221 culturas positivas, 166 (75,1 %) foram identificadas como Complexo *M. tuberculosis* (Tabela 1). A maioria dos isolados do Complexo *M. tuberculosis* (155/166, 93,4 %) foi sensível aos antimicrobianos isoniazida, rifampicina, etambutol e estreptomicina. Dez (6 %) isolados apresentaram monorresistência à isoniazida,

rifampicina ou estreptomicina e um isolado (0,6 %) apresentou multirresistência à isoniazida e rifampicina. Nenhum isolado foi resistente ao etambutol (Tabela 1).

As demais culturas positivas foram identificadas como MNT (21/221, 9,5%), *Mycobacterium* sp (33/221, 14,9 %) e uma cultura mista contendo Complexo *M. tuberculosis* e *M. avium*. O menor percentual de MNT (9,5 %) encontrado no presente estudo em relação às amostras do Complexo *M. tuberculosis* (75,1 %) corrobora com o encontrado na literatura. Andrade e col<sup>25</sup> identificaram 9,1 e 91,9 % e Maurya e col<sup>26</sup> identificaram 27,3 e 72,7 % de MNT e Complexo *M. tuberculosis*, respectivamente em pacientes hospitalizados. As espécies de MNT mais frequentes foram *M. avium* (5/21, 23,8 %) e *M. fortuitum* (19,0 %) (Tabela 2). Dois isolados de MNT foram identificados somente pelo grupo, pois apresentaram padrão de PRA-*hsp65* não descrito no algoritmo padrão<sup>19</sup> e na literatura. Os isolados identificados somente ao nível de gênero apresentaram contaminação, não sendo possível chegar à identificação conclusiva (Tabela 2). Cinco das 221 (2,2 %) culturas foram isoladas de indivíduos portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), das quais quatro do Complexo *M. tuberculosis* sensíveis aos antimicrobianos testados e uma delas identificada como *M. fortuitum* (Tabelas 1 e 2).

**Tabela 1.** Perfil de suscetibilidade a antimicrobianos dos isolados do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* provenientes de escarros de indivíduos privados de liberdade que apresentaram baciloscopia negativa e cultura positiva

Complexo <i>M. tuberculosis</i> n=166 (%)	Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos			
	Isoniazida	Rifampicina	Estreptomicina	Etambutol
155* (93,4)	S	S	S	S
1	S	S	R	S
7 (4,2)	R	S	S	S
2 (1,2)	S	R	S	S
1	R	R	S	S

\*quatro amostras foram isoladas de indivíduos portadores do HIV

**Tabela 2.** Frequência de crescimento de espécies não membros do Complexo *M. tuberculosis*, provenientes de escarros de indivíduos privados de liberdade que apresentaram baciloscopia negativa e cultura positiva

Micobactérias n = 55	Número de amostras (%)
Micobactérias não membros do Complexo <i>M. tuberculosis</i>	21 (38,2)
<i>Mycobacterium avium</i>	5 (23,8)
<i>Mycobacterium</i> crescimento rápido acromogena	1 (4,8)
<i>Mycobacterium</i> crescimento lento fotocromogena	1 (4,8)
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	4 (19,0) <sup>a</sup>
<i>Mycobacterium gordonae</i>	2 (9,4)
<i>Mycobacterium intracellulare</i> ou <i>M. chimaera</i>	1 (4,8)
<i>Mycobacterium kansasii</i>	3 (14,3)
<i>Mycobacterium lentiflavum</i> ou <i>M. parascrofulaceum</i>	3 (14,3)
<i>Mycobacterium mucogenicum</i>	1 (4,8)
Complexo <i>M. tuberculosis</i> e <i>Mycobacterium avium</i>	1 (1,8) <sup>b</sup>
<i>Mycobacterium</i> sp	33 (60,0)

<sup>a</sup> uma das amostras foi isolada de indivíduo portador do HIV

<sup>b</sup> cultura mista

## DISCUSSÃO

Apesar do aumento no número de casos novos no mundo, cerca 9 milhões, a taxa de incidência global vem diminuindo lentamente (menos de 1 % ao ano), sendo estimada uma taxa de 139 casos por 100 mil habitantes<sup>27</sup>. Em 2009 no Brasil, foram notificados 72 mil casos novos. O estado de São Paulo detecta o maior número absoluto de casos e o estado do Rio de Janeiro apresenta o maior coeficiente de incidência<sup>27</sup>. Um dos desafios para o controle da endemia é a elevada incidência entre populações de maior risco, entre elas a população prisional<sup>28</sup>, que contribuiu com 5 % dos casos notificados em 2008. No momento do ingresso no Sistema Penitenciário foi observado prevalência de 2,7 %<sup>29</sup>, avaliada por meio de inquérito radiológico, clínico e bacteriológico pela

baciloscopia, cultura do escarro e teste de sensibilidade<sup>27</sup>.

A realização da cultura, além de ser uma técnica sensível, permite o isolamento das colônias do Complexo *M. tuberculosis* e MNT utilizadas na identificação da espécie e teste de suscetibilidade aos fármacos antituberculose. No presente estudo, apesar do pequeno número de amostras de micobactérias isoladas dos escarros dos indivíduos que apresentaram baciloscopia negativa e cultura positivas (221/11529, 1,9 %), os resultados revelaram a presença de 166 micobactérias membros do Complexo *M. tuberculosis* e 21 MNT potencialmente patogênicas (*M. avium*, *M. fortuitum*, *M. intracellulare* e *M. kansasii*) (Tabelas 1 e 2). Este dado é relevante quando comparado ao número de amostras de escarros que apresentaram baciloscopias e culturas

positivas (168/11529, 1,5 %). De acordo com a Sociedade Americana Torácica, será considerado caso de micobacteriose o isolamento de MNT em mais de duas amostras de sítios não estéreis<sup>30</sup>. Salientamos que ao pesquisar o histórico dos respectivos 21 pacientes portadores de MNT, no Sistema de Controle de Pacientes com Tuberculose do Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo (TBWeb) e Sistema Integrado de Gestão Hospitalar (SIGH) não houve confirmação desses isolados de MNT em mais de uma amostra de escarro até o mês de abril de 2015. Para a caracterização de um caso de micobacteriose é necessário buscar no histórico clínico dos pacientes a confirmação de MNT positivo, pois é de extrema importância, principalmente em comunidades fechadas e imunodeprimidos, considerando ainda que as MNT são naturalmente resistentes a várias drogas<sup>31,32</sup>.

A observação, no presente estudo, da presença de quatro isolados do Complexo *M. tuberculosis* e um de MNT em indivíduos portadores do HIV (**Tabela 2**) mostra a importância da realização da cultura em indivíduos com baciloscopia negativa provenientes de populações de risco, sobretudo em ambientes de superpopulação. O resultado de baciloscopia negativa em casos de tuberculose e micobacteriose é observado em várias partes do mundo, retardam o tratamento e elevam a mortalidade, particularmente em pacientes imunocomprometidos, como na população com HIV<sup>33-35</sup>.

No Brasil, a realização do TS para o Complexo *M. tuberculosis* é recomendado para casos especiais como comunicantes de tuberculose resistente; pacientes com antecedentes de tratamento prévio, independentemente do tempo decorrido; pacientes imunodeprimidos, principalmente portadores do HIV; paciente com baciloscopia positiva no final do 2º mês de tratamento; falência ao tratamento antiTB; investigação de populações com maior risco de albergarem cepa do Complexo *M. tuberculosis* resistente (profissionais de saúde, população de

rua, privados de liberdade, pacientes internados em hospitais que não adotam medidas de biossegurança e instituições de longa permanência) ou com difícil abordagem subsequente (indígenas)<sup>27</sup>. Em estudo realizado em sistema prisional, foi relatado que o abandono do tratamento e os baixos índices de cura contribuem para emergir a resistência aos tuberculostáticos, tornando-se uma ameaça a qualquer tentativa de controle<sup>36</sup>. Este problema agrava ainda o fato de presídios funcionarem como reservatórios para a multirresistência às drogas antiTB (MRD-TB)<sup>37</sup>. Os testes de suscetibilidade realizados no presente estudo revelaram que 6,6 % (11/166) do total das amostras do Complexo *M. tuberculosis* foram resistentes aos antimicrobianos testados e multirresistência (resistência a pelo menos isoniazida e rifampicina) foi observada em um desses isolados. Esses dados corroboram com a literatura onde amostras do Complexo *M. tuberculosis* apresentaram resistência e/ou MRD-TB em amostras de escarros que apresentaram baciloscopia negativa ou positiva. Em 2012, a Organização Mundial de Saúde estimou incidência de multirresistência, ao menos a isoniazida e rifampicina, de aproximadamente 5,7 % nos casos de tuberculose no mundo<sup>38</sup>. Rusovich e col<sup>39</sup> relataram que dos 5377 casos de tuberculose registrados, 2960 (55 %) apresentaram baciloscopia negativa. Dos 2960, 1639 (55 %) eram cultura positiva, dos quais 768 (47 %) apresentaram multirresistência aos antimicrobianos testados.

Atualmente, testes rápidos moleculares para o diagnóstico da tuberculose podem detectar diretamente do escarro a presença do Complexo *M. tuberculosis* e resistência ao agente antimicrobiano rifampicina em até 2 horas<sup>40</sup>. Porém, a cultura continuará sendo realizada para possibilitar o cultivo do Complexo *M. tuberculosis* para a realização do TS ou identificação de amostras de MNT. Devemos salientar que, mesmo com o avanço tecnológico a cultura da micobactéria continuará sendo uma importante ferramenta no diagnóstico laboratorial das doenças causadas por micobactérias.

O presente estudo mostra a importância da cultura de amostras de casos que apresentam baciloscopia negativa no diagnóstico laboratorial da tuberculose ou micobacteriose. O emprego tardio do tratamento apropriado pode acarretar continuidade na transmissão da doença com agravamento do quadro clínico, principalmente em pacientes assintomáticos. A eficiência no diagnóstico da tuberculose nos Centros de Detenção Provisória de abrangência do CLR-IAL de Santo André é devida a diferentes ações que incluem a busca ativa permanente em conjunto com as Vigilâncias Epidemiológicas, Estadual e Municipal.

## REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de Recomendações para o Controle da tuberculose no Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Controle da Tuberculose. Brasília. 2010.
2. Bergmann JS, Yuoh G, Fish G, Woods GL. Clinical evaluation of the enhanced Gen-Probe Amplified *Mycobacterium tuberculosis* Direct Test for rapid diagnosis of tuberculosis in prison inmates. *J Clin Microbiol*. 1999;37:1419-25.
3. Banu S, Hossain A, Uddin MK, Uddin MR, Ahmed T, Khatun R, et al. Pulmonary tuberculosis and drug resistance in Dhaka central jail, the largest prison in Bangladesh. *PLoS One*. 2010;5:e10759. [DOI: 10.1371/journal.pone.0010759].
4. Chigbu LN, Iroegbu CU. Incidence and spread of *Mycobacterium tuberculosis*-associated infection among Aba Federal prison inmates in Nigeria. *J Health Popul Nutr*. 2010;28:327-32.
5. Global Tuberculosis Report. WHO/HTM/TB/2015.11. Geneva, World Health Organization, 2015.
6. Fournet N, Sanchez A, Massari V, Penna L, Natal S, Biondi E, et al. Development and evaluation of tuberculosis screening scores in Brazilian prisons. *Public Health*. 2006;120(10):976-83. [DOI: 10.1016/j.puhe.2006.06.004].
7. Sanchez A, Larouzé B, Espinola AB, Pires J, Capone D, Gerhardt G, et al. Screening for tuberculosis on admission to highly endemic prisons? The case of Rio de Janeiro State prisons. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2009;13:1247-52.
8. Falkinham JO 3rd. Epidemiology of Infection by Nontuberculous Mycobacteria. *Clin Microbiol Rev*. 1996; 9(2):177-215.
9. Maruthai K, Ravibalan T, Vallayachari K, Kesavan S, Samrot AV, Muthaiah M. Molecular typing and differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates using Double Repetitive Element PCR and Duplex PCR. *Int J Mycobacteriol*. 2015;4(1):60-6. [DOI: 10.1016/j.ijmyco.2014.11.061].
10. Colebunders R, Bastian I. A review of the diagnosis and treatment of smear-negative pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2000;4(2):97-107.
11. Affolabi D, Akpona R, Odoun M, Alidjinou K, Wachinou P, Anagonou S, et al. Smear-negative, culture-positive pulmonary tuberculosis among patients with chronic cough in Cotonou, Benin. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011;15(1):67-70.
12. Alavi-Naini R, Cuevas LE, Squire SB, Mohammadi M, Davoudikia AA. Clinical and laboratory diagnosis of the patients with sputum smear-negative pulmonary tuberculosis. *Arch Iran Med*. 2012;15(1):22-6. [DOI: 012151/AIM.007].
13. Assael R, Cervantes J, Barrera G. Smears and cultures for diagnosis of pulmonary tuberculosis in an asymptomatic immigrant population. *Int J Gen Med*. 2013;6:777-9. [DOI: 10.2147/IJGM.S48964].
14. Shah NS, Cavanaugh JS, Pratt R, Cain KP, Wells C, Laserson K, et al. Epidemiology of smear-negative pulmonary tuberculosis in the United States, 1993-2008. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2012;16(9):1234-40. [DOI: 10.5588/ijtld.11.0794].
15. Abebe G, Deribew A, Apers L, Abdissa A, Kiflie Y, Koole O, et al. Evaluation of the 2007 WHO guideline to diagnose smear negative tuberculosis in an urban hospital in Ethiopia. *BMC Infect Dis*. 2013;13:427. [DOI: 10.1186/1471-2334-13-427].

16. David HL. Bacteriology of mycobacterioses. US Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service, Communicable Disease Centre, Atlanta, USA, 1996.
17. Rieder HL, Van Deun A, Kam KM, Kim SJ, Chond TM, Trébucq A, et al. Priorities for Tuberculosis Bacteriology Services in Low-Income Countries. Second edition. International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union). Paris, France. 2007.
18. WHO/World Health Organization. Toman's Tuberculosis. Case detection, treatment, and monitoring. Questions and answers. 2nd edition. Edited by T. Frieden. WHO/ HTM/TB2004.334. Geneva, Switzerland. 2004.
19. Brasil. Ministério da Saúde. 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. 436 p. : il. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
20. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. 2010. [acesso: 201 Set 30]. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/].
21. Becton Dickinson and Company. 7 Loveton Circle, Sparks, MD 21152 USA. Folheto da BD BBL™ MGIT™, versão: MAI\_08\_001.
22. Kudoh S, Kudoh T. A simple technique for culturing tubercle bacilli. *Bull World Health Organ*. 1974; 51(1): 71-82.
23. Telenti A, Marchesi F, Balz M, Bally F, Böttger EC, Bodmer T. Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *J Clin Microbiol*. 1993;31(2):175-8.
24. Chimara E, Ferrazoli L, Ueky SY, Martins MC, Durham AM, Arbeit RD, et al. Reliable identification of mycobacterial species by PCR-restriction enzyme analysis (PRA)-*hsp65* in a reference laboratory and elaboration of a sequence-based extended algorithm of PRA-*hsp65* patterns. *BMC Microbiol*. 2008;8:48. [DOI: 10.1186/1471-2180-8-48].
25. Andrade FEM, Londoño CA, Acevedo CS, Echeverri AQ, Montaña CEB, Navas MAM, et al. Características clínicas, factores de riesgo y perfil de susceptibilidad de las infecciones por micobacterias documentadas por cultivo, en un hospital universitario de alta complejidad en Medellín (Colombia). *Rev Chil Infectol*. 2014;31(6):735-42. [DOI: 10.4067/S0716-10182014000600015].
26. Maurya AK, Nag VL, Kant S, Kushwaha RAS, Kumar M, Singh AK, et al. Prevalence of Nontuberculous Mycobacteria among Extrapulmonary Tuberculosis Cases in Tertiary Care Centers in Northern India. *BioMed Res Int*. 2015;2015:465403. [DOI: 10.1155/2015/465403].
27. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011. 284 p. : il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
28. Oliveira LGD, Natal S, Camacho LAB. Análise da implantação do Programa de Controle da Tuberculose em unidades prisionais no Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2015;31(3):543-54. [DOI: 10.1590/0102-311X00042914].
29. Sanchez A, Larouzé B, Espinola AB, Pires J, Capone D, Gerhardt G, et al. Screening for tuberculosis on admission to highly endemic prisons? The case of Rio de Janeiro State prisons. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2009;13(10):1247-52.
30. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007;175(4):367-416. [DOI: 10.1164/rccm.200604-571ST].
31. Gillespie SH. Evolution of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: clinical and molecular perspective. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(2):267-74. [DOI: 10.1128/AAC.46.2.267-274.2002].



32. Aily DCG, Berra JAP, Brandão AP, Chimara E. Tuberculose, HIV e coinfeção por TB/HIV no Sistema Prisional de Itirapina, São Paulo, Brasil. *Rev Inst Adolfo Lutz*. São Paulo, 2013; 72(4):288-94.
33. Bicmen C, Gunduz AT, Coskun M, Senol G, Cirak AK, Ozsoz A. Molecular detection and identification of *Mycobacterium tuberculosis* Complex and four clinically important non tuberculous mycobacterial species in smear-negative clinical samples by the genotype mycobacteria direct test. *J Clin Microbiol*. 2011;49(8):2874-8. [DOI: 10.1128/JCM.00612-11].
34. Ssengooba W, Kiwanuka N, Kateete DP, Katamba A, Joloba ML. Incremental yield of serial sputum cultures for diagnosis of tuberculosis among HIV infected smear negative pulmonary TB suspects in Kampala, Uganda. *PLoS One*. 2012;7(5):e37650. [DOI: 10.1371/journal.pone.0037650].
35. Kehinde Aderemi O, Dada-Adegbola H. Epidemiology of smear - negative tuberculosis in Ibadan, Nigeria. *Afr J Infect Dis*. 2013;7(1):14-7.
36. Oliveira HB, Cardoso JC. Tuberculosis among city jail inmates in Campinas, São Paulo, Brazil. *Rev Panam Salud Publica*. 2004;15(3):185-93. [DOI: 10.1590/S1020-49892004000300008].
37. O'Grady J, Maeurer M, Atun R, Abubakare I, Mwaba P, Bates M, et al. Tuberculosis in prisons: anatomy of global neglect. *Eur Respir J*. 2011;38(4):752-4. [DOI: 10.1183/09031936.00041211].
38. Global tuberculosis report. 2013. WHO/HTM/TB/2013.11. Geneva, World Health Organization, 2013.
39. Rusovich V, Kumar AM, Skrahina A, Hurevich H, Astrauko A, de Colombani P, et al. High time to use rapid tests to detect multidrug resistance in sputum smear-negative tuberculosis in Belarus. *Public Health Action*. 2014;4(4):243-8. [DOI: 10.5588/pha.14.0069].
40. Helb D, Jones M, Story E, Boehme C, Wallace E, Ho K, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampin resistance by use of on-demand, near-patient technology. *J Clin Microbiol*. 2010; 48:229-37. [DOI: 10.1128/JCM.01463-09].