

Comunicação Breve

Diversidade molecular de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* em uma região de favela da cidade do Rio de Janeiro*

Molecular diversity of *Mycobacterium tuberculosis* strains in a slum area of Rio de Janeiro, Brazil

Joycenea Matsuda Mendes¹, Sílvia Maria Almeida Machado², Maria Cristina Lourenço³, Rosa Maria Carvalho Ferreira⁴, Leila de Souza Fonseca⁵, Maria Helena Feres Saad⁶

Resumo

Este estudo retrospectivo envolvendo polimorfismo de fragmento de restrição e utilizando como marcador a sequência de inserção 6110, foi realizado para fornecer informações iniciais quanto à diversidade genética das cepas de *Mycobacterium tuberculosis* isoladas em favelas do Complexo de Manguinhos, na cidade do Rio de Janeiro. Das 67 cepas isoladas, 23 (34,3%) apresentaram *clusters* (total de *clusters*, 10). A transmissão entre comunicantes domiciliares e extra-domiciliares esteve associada a 20% e 60% dos *clusters*, respectivamente. Ser morador do Conjunto Habitacional Programado 2 foi associado à presença de *clusters*. Embora não significativo, é relevante o fato de que 26% das cepas em *cluster* apresentaram resistência primária. Estes achados, embora possivelmente subestimados devido à impossibilidade de analisar todas as cepas, fornecem subsídios para a melhoria do programa local de controle da tuberculose.

Descritores: Tuberculose; Epidemiologia molecular; *Mycobacterium tuberculosis*/transmissão; Polimorfismo de Fragmento de Restrição.

Abstract

This retrospective molecular study involving restriction fragment length polymorphism, using insertion sequence 6110 as a marker, was conducted in order to provide an initial insight into the genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in the slums of the Complexo de Manguinhos, located in the city of Rio de Janeiro, Brazil. Of the 67 strains evaluated, 23 (34.3%) were found to belong to clusters (total clusters, 10). Household and social chains of transmission were associated with clustering, in 20% and 60%, respectively. Living in the Conjunto Habitacional Programado 2 slum was associated with clustering. Although not significant, it is relevant that 26% of the clustered strains presented primary resistance. These findings, although possibly underestimating the prevalence due to the failure to analyze all strains, could help improve the local tuberculosis control program.

Keywords: Tuberculosis; Epidemiology, molecular; *Mycobacterium tuberculosis*/transmission; Polymorphism, Restriction Fragment Length.

A tuberculose (TB) ainda é uma doença associada com superpopulação, má nutrição e más condições de moradia, ocorrendo primariamente em países em desenvolvimento. Entretanto, enquanto houver indivíduos com TB ativa, a *Mycobacterium tuberculosis* continuará no mundo, já que, devido a sua natureza aerógena, a transmissão de TB encontra poucas barreiras que inibem sua ampla disseminação dentro da comunidade.

O Brasil ocupa a 22ª posição entre as taxas globais de incidência da TB. A maioria (39.836) dos novos casos de tuberculose no Brasil foram registrados na região sudeste, e o estado do Rio de Janeiro é o segundo maior contribuinte na região, com uma taxa de 99/100.000 habitantes.^(1,2) Entretanto, em algumas comunidades de baixa renda do Rio de Janeiro, como o Complexo de Manguinhos (CM), uma área urbana composta por 12 favelas, a taxa

* Trabalho realizado na Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

1. Médica Sanitarista. Centro de Pesquisa Leônidas & Maria Deane/Fundação Instituto Oswaldo Cruz – CplMD/Fiocruz – Manaus (AM) Brasil.

2. Biotecnologista III no Laboratório de Microbiologia Celular. Fundação Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

3. Pesquisadora Titular no Serviço de Bacteriologia. Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas/Fundação Instituto Oswaldo Cruz – IPEC/Fiocruz – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

4. Farmaceutica-bioquímica no Serviço de Bacteriologia. Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas/Fundação Instituto Oswaldo Cruz – IPEC/Fiocruz – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

5. Professora Titular do Laboratório de Micobactérias. Instituto de Microbiologia/Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

6. Pesquisadora Titular III no Laboratório de Microbiologia Celular. Fundação Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

Endereço para correspondência: Maria Helena Feres Saad. Laboratório de Microbiologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, Av. Brasil, 4365, CEP 21045-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Tel 55 21 2598-4346 E-mail: saad@ioc.fiocruz.br

Apoio financeiro: Este estudo recebeu apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Rede Brasileira de Pesquisas em Tuberculose (Rede TB) e da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Rio de Janeiro, Brasil.

Recebido para publicação em 7/2/2008. Aprovado, após revisão, em 24/4/2008.

excede os 150/100.000. De acordo com estudos anteriores,^(3,4) os casos de TB nesta área se concentravam em duas favelas, o Conjunto Habitacional Programado 2 (CHP2), e o Parque Carlos Chagas, as duas comunidades mais pobres da área, de 1986 a 1994, enquanto de 2000 to 2002, a incidência naquelas favelas, apesar de ainda alta, decaiu, e índices similares ou mais altos surgiram em outras favelas, sugerindo que a TB continua sendo endêmica nesta área, tornando-a um alvo interessante para estudos epidemiológicos.

Localizada na Zona de Saúde 3.1,⁽²⁾ que está situada na zona norte da cidade do Rio de Janeiro, o CM tem 42.100 habitantes distribuídos em aproximadamente 8.000 casa com aproximadamente 5 pessoas por casa. O Programa de Controle da Tuberculose (PCT) nesta área é operado pelo Centro Saúde Escola Germano Silval Faria/Escola Nacional de Saúde Pública/Fundação Oswaldo Cruz (CSEGSF/ENSP/Fiocruz). O CSEGSF serve prioritariamente a população do CM e é integrado ao Programa de Saúde da Família. O PCT promove a vacinação pelo bacilo de Calmette-Guérin e a busca passiva de casos. No presente estudo, a tipagem molecular retrospectiva de 67 isolados de *M. tuberculosis*, baseada no polimorfismo do comprimento de fragmentos de restrição (RFLP, *restriction fragment length polymorphism*), foi aplicada a fim de fornecer uma imagem inicial da transmissão nesta área.^(5,6) As amostras foram obtidas em um estudo anterior⁽⁷⁾ e representam 31% de todos os casos diagnosticados entre outubro de 2000 e dezembro de 2002.

O uso de *DNA fingerprinting* resultou em dez *clusters*, totalizando 23 (34,3%) das 67 cepas. Dentre estas 23, o padrão de RFLP apresentou 100% e 95% de similaridade em, respectivamente, 16 e 7 cepas. A maioria dos *clusters* mostrou um número de cópia da seqüência 6110 (S6110) variando entre 8 e 16 (média, 11), e apenas um *cluster* exibiu 2 cópias da IS6110. As idades dos pacientes variaram de 18 a 77 anos (média, 36 ± 14 anos), e 65,7% eram homens. Todos os pacientes foram testados para o HIV, e 6% eram soropositivos.

As características clínicas e demográficas dos pacientes analisadas pelo fator de risco (Tabela 1), de acordo com os padrões do RFLP e dos isolados de *M. tuberculosis*, mostraram que morar em comunidades faveladas como o CHP2, a Mandela de Pedra, o Parque Oswaldo Cruz, a Vila Turismo e Nelson Mandela aumentou em 4 vezes a proba-

bilidade de presença de *cluster* em comparação a outras comunidades (OR = 4,2; IC95%: 0,9-20,9; p = 0,048), apesar da maior parte dos pacientes com *cluster* (11/23, 47,8%) terem sido identificados no CHP2. Ser do sexo feminino teve forte correlação com a presença de *cluster* (OR = 6,0; IC95%: 1,7-21,7; p = 0,002). Apesar de não ter havido associação significativa entre a presença de *cluster* e resistência a drogas (OR = 3,4; IC95%: 0,9-12,8; p = 0,069), deve-se ter em mente que 40% dos *clusters* incluíam cepas com resistência primária, totalizando 26% (6/23) dos pacientes com presença de *cluster* (Tabela 2).

A proporção dos casos com *clusters* foi de 34,3% ou 31,3%, dependendo se cepas com apenas 2 cópias foram incluídas ou não na análise. Cepas com um padrão genotípico de baixo bandeamento de RFLP são melhores discriminados usando-se um método de tipagem como o *spoligo-typing* ou tipagem micobacteriana de unidades repetitivas intercaladas,⁽⁸⁾ nenhum dos quais foi aplicado no presente estudo, já que apenas dois pacientes abrigavam cepas com menos de 6 cópias da S6110 e não tinham ligação epidemiológica (Tabela 2). O número de cepas pode ter sido subestimado devido ao pequeno tamanho da amostra e ao período de estudo relativamente curto. Entretanto, nossos achados estão de acordo com as proporções recentemente descritas para transmissão em países em desenvolvimento (20% a 38%), apesar de informações ligando pacientes com presença de *cluster* não serem normalmente disponíveis.⁽⁹⁻¹²⁾ A presença de poucas cepas com presença de baixo número de cópias foi descrita em estudos anteriores realizados no Brasil bem como em outros países. Entretanto, um estudo feito na Índia mostrou números maiores.^(10,13)

A tuberculose clinicamente ativa predominou em homens jovens no CM. Entretanto, houve um número significativo de casos de mulheres com presença de *cluster* na presente investigação, o que provavelmente reflete o confinamento da mulher na comunidade, levando a maior exposição e transmissão. A presença de *cluster* tem sido associada à idade, tratamento prévio e esfregaços bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) positivos, apesar de relações epidemiológicas dificilmente estabelecidas.^(10,13,14) Em nosso estudo, estar infectado com uma cepa resistente e ter um esfregaço BAAR positivo não se relacionaram significativamente com a presença de *cluster*. Entretanto, os isolados de

Tabela 1 – Dados demográficos, clínicos e microbiológicos dos pacientes moradores do Complexo de Manguinhos, Rio de Janeiro (2000-2002), de acordo com polimorfismo do comprimento de fragmentos de restrição em *cluster* baseado na sequência 6110.

| Fator de Risco | <i>Cluster</i> (n = 23) | Sem <i>Cluster</i> (n = 44) | <i>Odds Ratio</i> (IC95%) | p |
|-------------------------|----------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------|
| Comunidade | | | | 0,048 |
| CHP2*/MP/POC/VT/NM | 20 | 27 | 4,2 (0,9-20,9) | |
| Ex-Comb/PCC/PJG/SM/VU | 3 | 17 | 1,0 | |
| Sexo | | | | |
| Masculino | 9 | 35 | 1,0 | |
| Feminino | 14 | 9 | 6,0 (1,7-21,7) | 0,002 |
| Idade (anos) | | | | |
| ≤ 30 | 8 | 24 | 1,0 | |
| > 30 | 15 | 20 | 2,2 (0,1-7,3) | 0,200 |
| Tratamento anterior | | | | |
| Não | 18 | 36 | 1,0 | |
| Sim | 5 | 8 | 1,2 (0,3-5,1) | 0,752 |
| Situação de HIV | | | | |
| Negativo | 22 | 34 | 1,0 | |
| Positivo | 1 | 3 | 0,5 (0,1-6,2) | 1,000 |
| Desconhecido | 0 | 7 | | |
| Baciloscopia de escarro | | | | |
| Negativo | 4 | 9 | 1,0 | |
| Positivo | 19 | 35 | 0,9 (0,2-4,4) | 1,000 |
| Resistência às drogas | | | | |
| Sensível | 14 | 37 | 1,0 | |
| Resistente | 9 | 7 | 3,4 (0,9-12,8) | 0,069 |
| Primário | 4 | 2 | | |
| Adquirida | 4 | 5 | | |
| MR | 3 | 5 | | |

CHP2: Conjunto Habitacional Programado 2; Ex-Comb: Ex-Combatente; MP: Mandela de Pedra; NM: Nelson Mandela; PCC: Parque Carlos Chagas; POC: Parque Oswaldo Cruz; SM: Samora Machel; VT: Vila Turismo; VU: Vila União; e MDR: multirresistência. *CHP2 foi responsável por 11 dos 20 pacientes com presença de *cluster*.

M. tuberculosis não estavam disponíveis para todos os pacientes diagnosticados no período. Portanto, pode haver uma tendência de se subestimar a proporção de cepas resistentes em um dado *cluster*. Apesar do fator estar infectado com uma cepa resistente não se correlacionar significativamente com a presença de *cluster*, vale observar que 40% dos *clusters* estavam envolvidos na transmissão de resistência primária, incluindo cepas multirresistentes (MRs—Tabela 1). A transmissão de cepas resistentes leva a problemas relacionados ao abandono do tratamento, refletindo o fracasso por parte do PCT local.⁽⁷⁾ Um resultado similar sobre a genotipagem de cepas MRs foi descrito em um estudo anterior realizado no Brasil.⁽¹⁵⁾ Entretanto, os autores daquele estudo descobriram que a ocorrência de MRs estava

significativamente associada com tratamento prévio de TB, bem como com o fracasso deste.

Um estudo epidemiológico demonstrou que a transmissão doméstica estava associada com 20% dos *clusters*, e que 60% destes estavam envolvidos na cadeia social de transmissão, a maioria com uma ligação epidemiológica potencial, como demonstrado na Tabela 1. Outros estudos relataram que as ligações podia claramente ser confirmadas com apenas um pequeno número de casos de *clusters*, já que o contato casual é difícil de ser avaliado através da entrevista convencional aplicada em nossa investigação.⁽¹⁶⁾ Em nosso estudo, este pode ter sido o caso dos *clusters* III e V, que compreendiam pacientes que moravam geograficamente próximos e, portanto, possivelmente faziam parte

Tabela 2 – Características clínicas, demográficas e epidemiológicas dos pacientes que abrigaram cepas com padrões de *cluster* baseados no polimorfismo do comprimento de fragmentos de restrição da sequência 6770 do Complexo de Manguinhos, uma área de baixa renda na zona norte da cidade do Rio de Janeiro, localizada no sudeste brasileiro.

| <i>Cluster</i> | Similaridade (%) | Cópia # | Idade | Sexo | Início dos sintomas | Início do tratamento | Padrão de sensibilidade às drogas | Proximidade Geográfica | Identificação da Favela | Observações | Tipo de Ligação Epidemiológica |
|----------------|------------------|---------|-------|------|---------------------|----------------------|-----------------------------------|------------------------|-------------------------|---|--------------------------------|
| I (Pac.1) | 95 | (12) | (33) | (M) | 05/09/2001 | 07/14/2001 | EM ^{RP} | Distante ≠ favelas | CHP2 MP | Saiu da prisão em Fevereiro/2001 Ambos viciados em drogas (i.v.) | PE |
| (Pac.2) | | (11) | (22) | (M) | 04/01/2002 | 04/28/2002 | EM ^{RP} | | | | |
| III (Pac.7) | 100 | (11) | (34) | (M) | 04/09/2001 | 05/09/2001 | S | Próxima ≠ favelas | CHP2 PJG | Viciados em drogas (i.v.) | PE |
| (Pac. 8) | | (11) | (27) | (F) | 05/19/2001 | 06/20/2001 | S | | | | |
| IV (Pac.9) | 100 | (12) | (43) | (M) | 07/21/2002 | 08/21/2002 | S | Distante ≠ favelas | POC SM | Viciado em drogas e alcoolatra | N |
| (Pac.10) | | (12) | (20) | (F) | 10/11/2002 | 12/11/2002 | S | | | Diabético Viciado em drogas | |
| V (Pac.11) | 100 | (09) | (30) | (F) | 02/21/2001 | 06/21/2001 | S | Próxima ≠ favelas | MP NM | TB Ganglionar | PE |
| (Pac.12) | | (09) | (55) | (F) | 02/04/2002 | 04/11/2002 | S | | | | |
| VI (Pac.13) | 95 | (10) | (53) | (F) | 10/12/2001 | 11/12/2001 | S | Próxima ≠ favelas | VT CHP2 | Filho teve TB in 1999 Amiga do filho do paciente 13 | PE |
| (Pac.14) | | (11) | (26) | (F) | 02/09/2002 | 03/27/2002 | S | | | | |
| VII (Pac. 15) | 100 | (11) | (40) | (M) | 09/09/1996 | 09/12/1996 | MR ^{Ad} | Mesma casa | CHP2 | Abandonou o tratamento esposa do Paciente 15 | DC |
| (Pac.16) | | (11) | (41) | (F) | 02/20/2001 | 03/21/2001 | MR ^P | | | | |
| VIII (Pac. 17) | 95 | (15) | (51) | (M) | 06/05/2002 | 07/05/2002 | MR ^{Ad} | Distante ≠ favelas | POC VT | Tratamento de TB anterior irregular | N |
| (Pac.18) | | (16) | (37) | (F) | 10/16/2002 | 12/16/2002 | S | | | | |
| X (Pac.24) | 100 | (11) | (49) | (F) | 10/01/2000 | 11/28/2000 | S | Mesma favela | CHP2 | Filha teve TB em 1997, Amiga da filha da Paciente 24, mesma rua da paciente 25, conhece a paciente 26 e mora próximo aos outros pacientes | EC PE |
| (Pac.25) | | (11) | (27) | (F) | 10/28/2000 | 12/28/2000 | S | | | | |
| (Pac.26) | | (11) | (24) | (F) | 11/01/2001 | 11/05/2001 | S | | | | |
| (Pac. 27) | | (11) | (18) | (M) | 12/01/2002 | 02/12/2003 | S | | | | |
| XI (Pac.28) | 100 | (11) | (45) | (F) | 11/01/2000 | 01/02/2001 | INH ^{Ad} | Mesma casa ≠ favelas | CHP2 PJG | Abandonou o tratamento | DC PE |
| (Pac.29) | | (11) | (77) | (F) | 01/01/2001 | 05/21/2001 | INH ^{RP} | | | Diabética, mãe da Paciente 28 | |
| (Pac.30) | | (95) | (41) | (M) | 04/01/2002 | 05/18/2002 | INH ^{RP} | | | | |
| XII (Pac. 31) | 100 | (02) | (42) | (F) | 11/07/2000 | 11/10/2000 | INH, | Próxima ≠ favelas | VT CHP2 | Viciada em drogas | N |
| (Pac. 32) | | (02) | (38) | (M) | 07/28/2001 | 11/20/2001 | RPI, ETH ^{RP} | | | | |

N: Não epidemiológica; DC: doméstico confirmado; EC: extra-domiciliar confirmado; PE: possível extra-domiciliar; i.v.: intravenoso; S: Sensível às drogas; EM: estreptomicina; INH: isoniazida; RIF: rifampicina; EMB: etambutol; MR: multirresistente (INH/RIF); RP: resistente primário; Ad: resistência adquirida; CHP2: Conjunto Habitacional Programado 2; MP: Mandela de Pedra; NM: Nelson Mandela; POC: Parque Oswaldo Cruz; SM: Samara Machel; VT: Vila Turismo; PJG: Parque João Goulart; SE: seqüência. RFLP: polimorfismo do comprimento de fragmentos de restrição (restriction fragment length polymorphism).

de uma cadeia de transmissão recente, apesar do caso-índice não ter sido identificado.

A recente transmissão de cepas exibindo o mesmo padrão genético, com exceção de uma a quatro bandas, tem sido descrita, apesar da mudança de uma única banda ser a mais comum.^(17,18) Os *clusters* I, VI e XI apresentaram transmissão com cepas com padrões um pouco diferentes, apesar da ligação para pacientes no *cluster* VI ter sido definida como possível. No *cluster* XI, a ligação foi o domicílio para 2 pacientes (confirmados para mãe e filha) em possivelmente extra-domiciliar para o terceiro. Apesar da ligação com o paciente presidiário no *cluster* I não ser claro, já que o paciente estava encarcerado geograficamente longe dos outros, os pacientes pertencem a um grupo de risco comum, e as cepas infectantes eram primariamente resistentes. Entretanto, existe a possibilidade de que a cepa (SM^R) tenha sido importada da prisão para a comunidade. Infelizmente, não existem outros estudos sobre genotipagem pelo método RFLP envolvendo isolados de presidiários no Rio de Janeiro, e é, portanto, impossível comparar padrões. A outra possibilidade é que o paciente estava infectado em latência antes do período de carceragem, e, devido ao estresse da prisão, a doença tornou-se ativa, ainda estando em desenvolvimento quando o preso foi libertado, resultando na cepa SM^R. Nossos dados, como os de outros estudos, sugerem que a análise do *cluster* baseada apenas em cepas idênticas pode subestimar a extensão da transmissão.^(19,20) Entretanto, também é possível que as cepas com uma diferença de apenas uma banda pertençam a uma família genotípica com uma pequena variedade de padrões. Uma vez que não recuperamos cepas de todos os casos de TB, os padrões obtidos representam a situação em um grupo limitado; outros pacientes que abrigam estes padrões de bandejamento podem ter passado despercebidos, levando a uma subestimação da proporção de *cluster* em CM.

A favela maior (CHP2), com estrutura sanitária parcial (água tratada e sistema de esgoto), teve a maior proporção de pacientes com presença de *clusters*. Isto não surpreende, considerando-se que as pessoas nesta comunidade populosa passam a maior parte do tempo fora de casa, o que envolve um contato intenso com a multidão, facilitando a transmissão. Outra área no Rio de Janeiro com características similares (Zona de Saúde 1), bem como áreas similares em outros países, tem sido

associada à presença de *cluster*. Entretanto, diferentemente do CHP2, a Zona de Saúde 1 é responsável pelos mais altos índices de infecção por HIV entre os casos de TB registrados.^(10,14) Na favela menor, Conjunto Agrícola de Higienópolis (195 habitantes), não houve registro de casos de TB durante todo o período avaliado.^(4,7) O fato do Conjunto Agrícola de Higienópolis ser isolado das outras favelas pode ter impedido a transmissão.

No presente estudo, além da clássica transmissão entre parentes, o contato fora de casa pode ter tido um papel importante na transmissão em uma área superlotada. Isto tem respaldo em nossos achados relacionados aos *clusters* VI, X e XI, nos quais ao menos um dos pacientes teve contato domiciliar anterior com a TB. No entanto, as cepas naqueles casos, com exceção daqueles no *cluster* XI, não estavam disponíveis para tipagem. Os outros pacientes incluídos naqueles *clusters* tiveram contato com a infecção, seja intenso ou casual, fora de casa.

A maioria dos *clusters* era composta de apenas dois pacientes, talvez devido à impossibilidade de recuperar cepas de todos os pacientes, o que resultou na perda de ligações com outros pacientes na cadeia de transmissão do CM. Outros estudos envolvendo todas as culturas positivas de *M. tuberculosis* obtidas em um período maior são necessários para monitorar a evolução da transmissão da TB na área. Entretanto, um dos principais problemas em trabalhar em comunidades de baixa renda é a violência urbana que freqüentemente interfere na comunicação com o serviço de saúde oficial.^(3,7) O presente estudo oferece um delineamento inicial da diversidade das cepas de *M. tuberculosis* no CM. Apesar de a prevalência ter sido subestimada, já que nem todas as cepas dos pacientes puderam ser isoladas, estes achados podem ajudar a melhorar as estratégias do PCT local.

Agradecimentos

Agradecemos a Selma do Rosário Lima, Chefe do Laboratório do CSEGSF, e Dr Luiz Augusto de Araújo Baptista, bem como aos agentes de saúde do Serviço de Estatística, Documentação e Informação em Saúde (SEDIS) Eliana dos Santos Silva; Alessandra Rosa, Ary do Carmo, Luciane de Almeida, Riany da Silva Silveira, Simone Marques, Viviane Menezes o fornecimento das informações dos dados dos pacientes com os quais este estudo foi feito.

Referências

- World Health Organization. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing : WHO report 2005. Geneva: World Health Organization, 2005.
- Secretaria de Saúde e Defesa Civil do Estado do Rio de Janeiro [Homepage on the Internet]. Rio de Janeiro: Secretaria de Saúde e Defesa Civil do Estado do Rio de Janeiro. [cited 2005 Sep 23]. Tuberculose. Available from: http://www.saude.rj.gov.br/tuberculose/home_tuberc.shtml
- Mendes JM, Santos MO, Esteves MA, Saad MH, Patroclo MA. Aspectos epidemiológicos da tuberculose no Complexo de Manguinhos, Rio de Janeiro, Brasil. Estudo retrospectivo no período de 1986 a 1994. *Pulmão RJ*. 2002;11(2):46-50.
- Mendes JM, Fonseca LS, Lourenço MC, Ferreira RM, Saad MH A retrospective study of the epidemiological aspects of tuberculosis in the Complexo de Manguinhos, an urban slum area in Rio de Janeiro, Brazil, 2000-2002. *J Bras Pneumol*. 2007;33(4):443-7.
- van Embden JD, Cave MD, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B, et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J Clin Microbiol*. 1993;31(2):406-9.
- Saad MH, Fonseca LD, Ferrazoli L, Fandinho F, Palaci M, Grinsztejn B, et al. IS1245 genotypic analysis of *Mycobacterium avium* isolates from patients in Brazil. *Int J Infect Dis*. 1999;3(4):192-6.
- Mendes JM, Lourenço MC, Ferreira RM, Fonseca LS, Saad MH. Drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from sputum samples from symptomatic outpatients: Complexo de Manguinhos, Rio de Janeiro, Brazil. *J Bras Pneumol*. 2007;33(5): 579-82.
- Prodinge WM. Molecular epidemiology of tuberculosis: toy or tool? A review of the literature and examples from Central Europe. *Wien Klin Wochenschr*. 2007;119(3-4):80-9.
- Warren R, Hauman J, Beyers N, Richardson M, Schaaf HS, Donald P, et al. Unexpectedly high strain diversity of *Mycobacterium tuberculosis* in a high-incidence community. *S Afr Med J*. 1996;86(1):45-9.
- Oelemann MC, Fontes AN, Pereira MA, Bravin Y, Silva G, Degraive W, et al. Typing of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Community Health Centers of Rio de Janeiro City, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;102(4):455-62.
- Baptista IM, Oelemann MC, Opromolla DV, Suffys PN. Drug resistance and genotypes of strains of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from human immunodeficiency virus-infected and non-infected tuberculosis patients in Bauru, São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97(8):1147-52.
- Calusni AL, Roscani GN, Villares MC, Soini H, Graviss EA, Ramos Mde C. IS6110 restriction fragment length polymorphism of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from patients with pulmonary tuberculosis in Campinas, Brazil: evidence of intercontinental distribution of strains. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003;98(5):655-8.
- Narayanan S, Das S, Garg R, Hari L, Rao VB, Frieden TR, et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in a rural area of high prevalence in South India: implications for disease control and prevention. *J Clin Microbiol*. 2002;40(12):4785-8.
- Verver S, Warren RM, Munch Z, Richardson M, van der Spuy GD, Borgdorff MW, et al. Proportion of tuberculosis transmission that takes place in households in a high-incidence area. *Lancet*. 2004;363(9404):212-4.
- Valim AR, Possuelo LG, Cafrune PI, Borges M, Ribeiro MO, Rossetti ML, et al. Evaluation and genotyping of multidrug-resistant cases of tuberculosis in southern Brazil. *Microb Drug Resist*. 2006;12(3):186-91.
- Van Soolingen D. Molecular epidemiology of tuberculosis and other mycobacterial infections: main methodologies and achievements. *J Intern Med*. 2001;249(1):1-26.
- Iljaz K, Yang Z, Matthews HS, Bates JH, Cave MD. *Mycobacterium tuberculosis* transmission between cluster members with similar fingerprint patterns. *Emerg Infect Dis*. 2002;8(11):1257-9.
- Warren RM, van der Spuy GD, Richardson M, Beyers N, Booyens C, Behr MA, et al. Evolution of the IS6110-based restriction fragment length polymorphism pattern during the transmission of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol*. 2002;40(4):1277-82.
- Braden CR, Templeton GL, Cave MD, Valway S, Onorato IM, Castro KG, et al. Interpretation of restriction fragment length polymorphism analysis of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from a state with a large rural population. *J Infect Dis*. 1997;175(6):1446-52.
- Bennett DE, Onorato IM, Ellis BA, Crawford JT, Schable B, Byers R, et al. DNA fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from epidemiologically linked case pairs. *Emerg Infect Dis*. 2002;8(11):1224-9.