

Teste rápido molecular GeneXpert MTB/RIF para diagnóstico da tuberculose

GeneXpert MTB/RIF assay for diagnosis of tuberculosis

Taiza Maschio de Lima, Naiara Cristina Ule Belotti, Susilene Maria Tonelli Nardi, Heloisa da Silveira Paro Pedro
Instituto Adolfo Lutz, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil

RESUMO

INTRODUÇÃO: Em 2013, no Sistema Único de Saúde, foi implantada uma ferramenta rápida para o diagnóstico da tuberculose (TB), o método GeneXpert MTB/RIF, que detecta a presença do material genético do complexo *Mycobacterium tuberculosis* e a resistência à rifampicina em uma única reação, fornecendo resultados dentro de 2 h. **OBJETIVO:** Analisar os resultados da utilização do método GeneXpert para o diagnóstico laboratorial da TB. **METODOLOGIA:** Realizou-se uma revisão de literatura sobre o método GeneXpert, com a utilização de manuais e artigos, em diferentes idiomas, das fontes MEDLINE, SciELO, LILACS e Google Acadêmico, na qual foram selecionados 60 artigos. **RESULTADOS:** Dos 49 artigos que relataram o uso de material clínico, 51,0% (N = 25) analisaram amostras provenientes de países considerados prioritários pela Organização Mundial da Saúde. Embora 63,2% (N = 31) dos artigos se reportem a amostras pulmonares, alguns estudos mostraram boa performance do método em amostras extrapulmonares. A sensibilidade do GeneXpert nos estudos analisados variou entre 46,0% e 100,0%. As pesquisas revelaram bom desempenho do método molecular GeneXpert para o diagnóstico da TB. A técnica é considerada simples, com baixos riscos biológicos, com custo equivalente ao de outras técnicas moleculares, e pode ser realizada com treinamento mínimo. **CONCLUSÃO:** Muitos estudos apontaram a rapidez, a boa sensibilidade e a especificidade desse método. O GeneXpert ainda não elimina a necessidade do uso de métodos bacteriológicos tradicionais. Trabalhos futuros poderão esclarecer algumas divergências entre as pesquisas consultadas, principalmente em relação à resistência à rifampicina.

Palavras-chave: Tuberculose; Diagnóstico; *Mycobacterium tuberculosis*; Biologia Molecular.

ABSTRACT

INTRODUCTION: In 2013, the GeneXpert MTB/RIF assay, a rapid tool for diagnosis of tuberculosis (TB), was implanted in Brazilian Unified Health System. This test detects the presence of genetic material of the *Mycobacterium tuberculosis* complex and the resistance to rifampicin in a single reaction, providing results within 2 h. **OBJECTIVE:** To analyze the results of the use of GeneXpert assay for laboratory diagnosis of TB. **METHODOLOGY:** A review of the literature about the GeneXpert assay was carried out using manuals and articles from different languages on MEDLINE, SciELO, LILACS, and Google Scholar in which 60 articles were selected. **RESULTS:** From the 49 articles that reported using clinical material, 51.0% (N = 25) analyzed samples from priority countries according to World Health Organization. Although 63.2% (N = 31) of articles have reported pulmonary samples, some studies have shown good performance of that method in extrapulmonary samples. The sensitivity of GeneXpert in the analyzed studies ranged from 46.0% to 100.0%. Surveys have shown good performance of the GeneXpert molecular assay for the diagnosis of TB. The technique is simple, with low biological risks, with equivalent cost of other molecular techniques and can be performed with minimal training. **CONCLUSION:** Many studies have pointed out this method is quickly, with good sensitivity and specificity. GeneXpert does not eliminate the need of traditional bacteriological methods. Future studies may clarify some divergences among consulted researches, mainly about resistance to rifampicin.

Keywords: Tuberculosis; Diagnosis; *Mycobacterium tuberculosis*; Molecular Biology.

Correspondência / Correspondence:

Heloisa da Silveira Paro Pedro

Instituto Adolfo Lutz

Rua Alberto Sufredini Bertoni, 2325. Bairro: Maceno – CEP: 15060-020 – São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil – Tel.: +55 (17) 3224-2602
E-mail: hsppedro@ial.sp.gov.br

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa bacteriana que afeta principalmente os pulmões (tuberculose pulmonar) e pode também acometer outros órgãos (tuberculose extrapulmonar) ou, ainda, ocorrer de forma disseminada¹.

A incidência da doença está em queda no mundo; no entanto, ainda é motivo de muitos óbitos em todos os continentes, com enfoque nas regiões africanas, devido aos altos índices de pacientes com vírus da imunodeficiência adquirida (HIV)².

Desde a década de 1990, a TB é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) uma emergência mundial. Metas globais foram estabelecidas para o seu controle, visando sua incidência, prevalência e mortalidade. Essas metas estão inseridas dentre os Objetivos do Desenvolvimento do Milênio, assim como na Stop TB Partnership e na Assembleia Mundial da Saúde. Esperava-se que, até o fim de 2015, ocorresse a redução pela metade das taxas de incidência e prevalência em relação aos dados de 1990; e que, até 2050, a incidência global seja menor que 1/1.000.000 de habitantes por ano^{3,4}.

Várias espécies do gênero *Mycobacterium* atuam como agentes etiológicos da doença, sendo as espécies pertencentes ao complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) as principais associadas à TB em humanos e outros mamíferos¹.

O diagnóstico presuntivo da TB é obtido por meio de achados clínicos e exames radiológicos, sendo o caso confirmado a partir da realização dos exames laboratoriais estabelecidos pelo Ministério da Saúde (MS), como a bacilosscopia e a cultura. Esses métodos apresentam limitações, como a baixa sensibilidade da bacilosscopia e a demora no resultado da cultura devido à multiplicação lenta do bacilo. Atualmente, a cultura é considerada padrão-ouro para o diagnóstico da TB⁵.

As técnicas de biologia molecular têm permitido resultados seguros e precoces. Os métodos de reação em cadeia da polimerase (PCR) apresentam uma sensibilidade em torno de 50% e especificidade de cerca de 100%, porém colidem com certos obstáculos, como a necessidade de conhecimentos técnicos avançados, recursos humanos qualificados, gastos financeiros altos e fácil contaminação².

Recentemente, uma técnica de PCR fechada foi desenvolvida e está implantada em laboratórios de referência em vários países, inclusive no Brasil, o GeneXpert MTB/RIF (Cepheid), usado como uma ferramenta rápida para o diagnóstico da TB⁶. O teste realiza a purificação, concentração e amplificação de ácidos nucleicos em tempo real por meio da PCR; os processos de preparação da amostra, amplificação e detecção ocorrem de forma automatizada, que é o seu principal benefício⁵.

Em março de 2013, o Teste Rápido Molecular para Tuberculose (TRM-TB) foi submetido à Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologia

(CONITEC/MS) e incluído no Sistema Único de Saúde (SUS) do Brasil. Após, 127 laboratórios de 92 municípios foram selecionados para receber o método molecular na primeira fase de implantação. Esses municípios compõem a Rede de Teste Rápido para Tuberculose e foram selecionados com base nos seguintes critérios: alta taxa da doença em 2012, população indígena, população privada de liberdade, municípios de fronteiras e capitais. Anteriormente, um estudo piloto fora realizado nas cidades do Rio de Janeiro e Manaus, tendo demonstrado que o TRM-TB aumentou a detecção de casos em 43% em relação à bacilosscopia, com sensibilidade de 90% e especificidade de 99%⁴.

O método GeneXpert MTB/RIF, ao mesmo tempo em que identifica o complexo MTB a partir da sequência específica do gene *rpoB* na região 81bp, também verifica a resistência à rifampicina (RIF) por meio das mutações do gene. O ensaio GeneXpert é composto de um cartucho plástico para o processamento das amostras líquidas, contendo tampões e reagentes liofilizados de PCR, uma máquina automática e um sistema de software, que analisa amostras respiratórias em 2 h. O método apresenta um limite de detecção em torno de 131 UFC/mL da amostra^{2,7}.

O GeneXpert foi projetado para ter riscos biológicos mínimos, sendo substancialmente menores do que os apresentados na microscopia, já que a única etapa manual é a preparação da mistura de um tampão bactericida com uma amostra, e essa mistura é adicionada ao cartucho^{8,9}. Diferentemente dos outros ensaios de PCR em tempo real, o GeneXpert é uma técnica simples, que pode ser realizada com treinamento pessoal mínimo e fornece resultados em um curto período^{10,11,12}.

O teste está preconizado para o diagnóstico dos casos de TB e para pacientes com suspeita de multirresistência ou portadores do HIV. Por ser um método sensível que utiliza PCR, não é indicado para pacientes que já tiveram a TB, pois esses indivíduos ainda podem apresentar resíduos de DNA do bacilo, que podem ser captados pelo sistema GeneXpert, resultando em um falso-positivo¹³.

Mutações silenciosas, aquelas que não alteram as propriedades das proteínas codificadas, podem ser captadas como mutações específicas no gene *rpoB* pelo GeneXpert, originando um resultado falso-positivo. Dessa forma, a OMS recomenda repetir o teste em outra amostra do paciente. Assim, o tratamento deve ser iniciado após o teste molecular detectar repetidamente a resistência^{14,15}.

As pesquisas e estudos sobre métodos de diagnósticos são importantes no âmbito científico para facilitar e acelerar o descobrimento da doença e, consequentemente, o seu tratamento, aumentando as chances de cura dos pacientes. Dessa forma, buscou-se, por meio de uma revisão de literatura nacional e internacional, analisar os resultados da utilização da metodologia de diagnóstico para TB,

GeneXpert, uma vez que foi recentemente implantada em nível mundial e no SUS com a proposta de ser uma ferramenta precisa, específica e rápida quando comparada a outros métodos.

METODOLOGIA

Realizou-se um levantamento de informações acerca do método GeneXpert, utilizando uma pesquisa exploratória e de caráter bibliográfico. Trata-se de uma revisão da literatura nacional e internacional relacionada a essa metodologia para o diagnóstico da TB.

Para essa busca, foram utilizados artigos escritos em português, espanhol e inglês, publicados no período de 2010 a 2015, indexados nas bases de dados: Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), Scientific Electronic Library Online (SciELO), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e Google Acadêmico. Os termos pesquisados, associados ou não, foram: tuberculose; Xpert; GeneXpert; Cepheid; Xpert MTB; Xpert MTB RIF; Cepheid Xpert; GeneXpert Tuberculosis. A maioria desses descritores, apesar de não serem encontrados nos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), é amplamente utilizada por pesquisadores da área e encontrada nas bases de dados.

O material foi categorizado de acordo com o ano de publicação, o periódico, o local do estudo e os resultados encontrados. Foi elaborado um protocolo para organização da análise dos artigos contendo os itens: base de dados, autores, periódico, ano, local e período do estudo, objetivo, resultados favoráveis e desfavoráveis, amostragem/população-alvo, técnica de comparação, especificidade, sensibilidade, conclusões favoráveis e desfavoráveis e idioma do artigo. Foram incluídos artigos originais com abordagem quantitativa e/ou de revisão, e excluídos os artigos que não estavam relacionados ao tema deste estudo, bem como os publicados fora do período analisado.

A busca resultou em 75 artigos. Na base LILACS, foram encontrados seis trabalhos e, desses, dois foram excluídos por serem de reflexão e revisão; na MEDLINE, encontraram-se 47 artigos, sendo que um não entrou para análise por não abordar diretamente o tema, um por ser revisão e quatro foram excluídos por terem a abordagem metodológica diferente do objetivo desta revisão; na SciELO, a busca resultou em oito, sendo três excluídos, um por se tratar de uma abordagem da TB sem resultados diretos sobre o GeneXpert, um por ser artigo de revisão e outro por ter a metodologia divergente do objetivo desta revisão; e, no Google Acadêmico, 11 foram encontrados, sendo excluídos um artigo em francês, um por não abordar diretamente o GeneXpert e dois por serem artigos de revisão. Além disso, foram utilizados dois artigos retirados das bases de dados do Ministério da Saúde e um relatório da OMS para a pesquisa de dados estatísticos. Desse modo, foram analisados 60 artigos neste estudo.

Para a apresentação da síntese de alguns dos dados encontrados, optou-se pela criação de quadros que indicam o artigo analisado, a especificidade e a sensibilidade encontradas no método GeneXpert, a técnica que o autor utilizou para comparação e a amostragem. Esses dados foram apresentados de acordo com os tipos de amostras utilizadas pelos autores: amostras extrapulmonares e pulmonares, amostras exclusivamente extrapulmonares ou pulmonares. As principais conclusões desses artigos, com o respectivo local de estudo, foram apresentadas em quadro separado.

RESULTADOS

Dos 60 artigos analisados, 11 (18,3%) entraram para os itens introdução e discussão, pois abordaram a TB e/ou o GeneXpert em um contexto geral.

Dos 49 artigos que utilizaram amostras clínicas, 25 (51,0%) foram provenientes de países considerados prioritários para TB, e 24 (49,0%) foram de países com incidência relativamente baixa como EUA, Espanha, Grécia, Itália, França, Canadá, Suíça, Alemanha, Polônia, entre outros.

Nos artigos que utilizaram amostras clínicas ($N = 49$), a TB pulmonar foi a mais relatada, representando 63,2% ($N = 31$). A TB extrapulmonar foi objeto de estudo em 14,3% ($N = 7$) dos artigos e 22,5% ($N = 11$) estudaram amostras extrapulmonares e pulmonares.

Nos artigos avaliados nesta revisão, o menor valor de sensibilidade encontrado para o método GeneXpert foi de 46,0%¹⁶ e o maior, de 100%^{10,13,17,18} para a detecção do bacilo.

No quadro 1, são apresentados estudos com amostras pulmonares e extrapulmonares.

A seguir, no quadro 2, são apresentados estudos que utilizaram somente amostras pulmonares.

No quadro 3, são apresentados estudos que utilizaram somente amostras extrapulmonares.

No quadro 4, são listadas as principais conclusões acerca do método GeneXpert em estudos incluídos nesta revisão.

DISCUSSÃO

O teste molecular rápido GeneXpert é uma técnica consideravelmente nova e encontra-se em fase de implantação em muitos países, uma vez que a comunidade global se mobilizou rapidamente para usar essa nova tecnologia, com vistas a melhorar o diagnóstico da TB. Esse método ainda é questionado sobre o seu desempenho para diagnosticar a doença e a resistência à RIF, principalmente quando é confrontado com bacilosscopia, cultura e teste de sensibilidade aos antibióticos (TSA), que são técnicas comumente empregadas na identificação da TB e da resistência aos medicamentos. Devido a isso, estudos estão sendo realizados em nível mundial para avaliar a acurácia do GeneXpert e os resultados de sua implantação.

Estudo	Especificidade	Sensibilidade	Técnica de comparação	Amostragem
Ioannidis et al. ⁸ , 2011	93,0% [IC 84,3–97,6]	91,4% [IC 76,9–98,1]	Cultura, baciloscopy	80 pulmonares, 41 extrapulmonares
Armand et al. ¹⁰ , 2011	–	100,0% (esfregaços positivos), 48,0% (esfregaços negativos)	IS6110 TaqMan	60 pulmonares, 37 extrapulmonares
Vallejo et al. ¹³ , 2015	95,2% (amostras respiratórias), 94,1% (amostras não respiratórias)	93,9% (amostras respiratórias), 100,0% (amostras não respiratórias)	Cultura	384 pulmonares, 145 extrapulmonares
Zeka et al. ¹⁹ , 2011	100,0% (amostras pulmonares e extrapulmonares)	82,3% (amostras pulmonares), 52,1% (amostras extrapulmonares)	Cultura, baciloscopy	253 pulmonares, 176 extrapulmonares
Teo et al. ²⁰ , 2011	89,5%	90,9%	Cultura, Gen-Probe's*	131 pulmonares, 31 extrapulmonares
Miller et al. ²¹ , 2011	95,0% [IC: 71,0–75,0]	92,0% [IC: 34,0–37,0]	IS6110 LDT†	89 pulmonares, 23 extrapulmonares
Bowles et al. ²² , 2011	92,0%	93,8% (cultura), 62,5% (baciloscopy), 100,0% (detecção da resistência à RIF)	Cultura, baciloscopy TSA‡	87 pulmonares, 2 extrapulmonares
Iram et al. ¹⁸ , 2015	100,0% (esfregaços positivos), 96,0% (esfregaços negativos)	100,0% (esfregaços positivos), 80,0% (esfregaços negativos)	Cultura, baciloscopy	205 pulmonares, 40 extrapulmonares

* Genotype multidrug-resistant tuberculosis plus; † IS6110 LDT: IS6110 laboratory-developed test; ‡ TSA: Teste de sensibilidade aos antibióticos; IC: Intervalo de confiança.

Quadro 1 – Estudos acerca do GeneXpert MTB/RIF em amostras pulmonares e extrapulmonares

Estudo	Especificidade	Sensibilidade	Técnica de comparação	Amostragem
Marlowe et al. ⁷ , 2011	–	98,0% (esfregaços positivos) 72,0% (esfregaços negativos)	Cultura, baciloscopy	217 respiratórias
Sekadde et al. ²³ , 2013	96,5% [IC 93,0–98,3]	79,4% [IC: 63,2–89,7]	Cultura, baciloscopy	250 de escarro de 250 pacientes com suspeita de TB pulmonar
Balcha et al. ²⁴ , 2014	98,4% [IC: 97,0–99,2]	66,4% [IC: 57,2 – 74,6]	Cultura líquida, baciloscopy	1.514 de escarro de 812 pacientes
Atehortúa et al. ²⁵ , 2015	92,0% [IC: 81,0–96,0]	91,0% [IC: 73,0–97,0]	Cultura, baciloscopy	103 pulmonares de 103 pacientes com suspeita de TB pulmonar
Helb et al. ¹⁷ , 2010	100,0% (esfregaços negativos)	100,0% (esfregaços positivos) 71,7% (esfregaços negativos)	Cultura, baciloscopy	107 de escarro
Sohn et al. ¹⁶ , 2014	99,8% [IC: 98,7–100,0]	46,0% [IC: 27,0–67,0]	Cultura, baciloscopy	1.004 respiratórias de 502 pacientes com suspeita de TB pulmonar
Huh et al. ²⁶ , 2014	87,9% [IC: 82,4–92,0], 98,9% [IC: 93,2–99,9] na detecção da resistência à RIF	91,3% [IC: 83,8–95,7], 85,7% [IC: 42,0–99,2] na detecção da resistência à RIF	Baciloscopy, cultura, TSA*	303 respiratórias de 303 pacientes
Scott et al. ²⁷ , 2011	97,0% [IC: 92,0–99,0]	86,0% [IC: 76,0–93,0]	Baciloscopy, cultura MGIT†, Genotype MDR-TB plus‡, LCTB§	311 de escarro de 311 pacientes
Rachow et al. ²⁸ , 2011	99,0% [IC: 94,7–100,0]	88,4% [IC: 78,4–94,9]	Cultura, baciloscopy	876 de escarro
Park et al. ²⁹ , 2013	98,0% [IC: 95,6–99,2]	67,9% [IC: 47,7–84,1]	Cobas TaqMan, MTB	320 respiratórias de 311 pacientes com suspeita de TB pulmonar

* Teste de sensibilidade aos antibióticos; † Mycobacteria Growth Indicator Tube; ‡ Genotype multidrug-resistant tuberculosis plus; § LighCycler® Mycobacterium Detection; IC: Intervalo de confiança.

Quadro 2 – Estudos acerca do GeneXpert MTB/RIF em amostras pulmonares

Estudo	Especificidade	Sensibilidade	Técnica de comparação	Amostragem
Patel et al. ² , 2013	94,0% [IC: 85,0–98,0]	67,0% [IC: 53,0–79,0]	Achados clínicos, baciloscopy	149 de líquido cefalorraquidiano
Tadesse et al. ⁹ , 2015	91,1% [IC: 82,8–99,4]	87,8% [IC: 81,0–94,5]	Citologia, baciloscopy	143 extrapulmonares
Tortoli et al. ³⁰ , 2012	99,8%	81,3%	Cultura, baciloscopy, achados clínicos	1.476 extrapulmonares
Vadwai et al. ³¹ , 2011	99,6%	81,0% (esfregaços negativos) 96,0% (esfregaços positivos)	Cultura, baciloscopy, achados clínicos	547 extrapulmonares
Rufai et al. ³² , 2015	100,0% [IC: 96,8–100,0]	54,8% [IC: 38,8–70,1]	Cultura líquida, MGIT*	162 de fluido pleural

* Mycobacteria Growth Indicator Tube; IC: Intervalo de confiança.

Quadro 3 – Estudos acerca do GeneXpert MTB/RIF em amostras extrapulmonares

(continua)

Estudo	Local do estudo	Conclusões
Ioannidis et al. ⁸ , 2011	National Reference Laboratory for Mycobacteria, Grécia	Alta capacidade de detectar o complexo MTB, com destaque para os casos com baciloscopy negativa.
Armand et al. ¹⁰ , 2011	Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, França	Método simples, adequado para a detecção do complexo MTB, tanto em amostras respiratórias como não respiratórias. Há poucos estudos na avaliação dos impactos da implementação, já que possui um alto custo.
Patel et al. ² , 2013	Universidades de KwaZulu-Natal e Cape Town, África do Sul	GeneXpert mostrou-se um bom teste para o diagnóstico da tuberculose meníngea (TBM) em regiões endêmicas, utilizando amostras de líquor. Necessidade de mais estudos para avaliar o potencial do método em regiões endêmicas de TBM.
Teo et al. ²⁰ , 2011	National University Hospital, Singapura	Em contraste com o teste Gen-Probe's, o ensaio de GeneXpert MTB/RIF é automatizado, oferece riscos mínimos de biossegurança e baixo potencial de contaminação. A detecção de mutações associadas à RIF é também uma vantagem adicional.
Vallejo et al. ¹³ , 2015	Instituto Nacional del Tórax, Chile	O teste contribui muito para o diagnóstico da TB, com bons resultados tanto para amostras respiratórias como para as de outros tipos, além de fornecer informações relevantes sobre a resistência no estágio inicial.
Tadesse et al. ⁹ , 2015	Jimma University Specialized Hospital, Etiópia	O GeneXpert MTB/RIF é uma ferramenta útil para a detecção do complexo MTB com altas sensibilidade e especificidade, sendo um método fácil e adequado para ser usado em regiões endêmicas de TB.
Marlowe et al. ⁷ , 2011	Oeste dos Estados Unidos da América	O GeneXpert é um ensaio simples, rápido, preciso e seu custo é similar a outros ensaios de PCR utilizados comercialmente. GeneXpert detectou três amostras RIF-resistentes, que, após novos testes, revelaram ser resultados falso-resistentes.
Zeka et al. ¹⁹ , 2011	Ege University, Faculty of Medicine, Turquia	O método é menos dependente das habilidades dos usuários e do treinamento pessoal. Em um curto tempo, detecta simultaneamente <i>M. tuberculosis</i> e resistência à RIF. Embora o teste possa ser uma ferramenta útil para a rápida identificação da TB, os seus resultados devem ser confirmados por cultura e TSA.
Bowles et al. ²² , 2011	University Center for Chronic Diseases Dekkerswald, Países Baixos	O GeneXpert MTB/RIF é uma técnica rápida, simples, segura, requer poucas precauções de biossegurança, sendo necessário praticamente nenhum treinamento. É um método altamente promissor para o diagnóstico de pacientes com TB, embora a acurácia tenha sido menor do que a da cultura.
Sekadde et al. ²³ , 2013	Mulago National Referral Hospital, Kampala, Uganda	O teste GeneXpert MTB/RIF se mostrou eficaz em amostras de escarro e identificou rápida e corretamente a maior parte dos pacientes com TB, com cultura confirmada.
Balcha et al. ²⁴ , 2014	Cinco centros de saúde localizados na Etiópia	O método GeneXpert obteve bons resultados, principalmente quando comparado à baciloscopy, possuindo uma alta sensibilidade em grupos de indivíduos com avançada imunossupressão. Na opinião dos autores, o teste GeneXpert deve ser utilizado como adjunto à baciloscopy e não substituí-la, como apontam outros estudos.
Rachow et al. ²⁸ , 2011	Mbeya Zonal Referral Hospital, Tanzânia	O GeneXpert MTB/RIF é um método altamente sensível, específico e rápido para diagnosticar a TB e tem potencial para complementar a cultura. A sua utilidade na detecção do bacilo, em amostras com baciloscopy e cultura negativas, necessita de mais estudos.

Quadro 4 – Conclusões acerca do método GeneXpert em diversos estudos

Estudo	Local do estudo	Conclusões
Scott et al. ²⁷ , 2011	Unidade primária de saúde em Johannesburg, África do Sul	O ensaio GeneXpert obteve desempenho superior à baciloscopia e a outros métodos moleculares no rápido diagnóstico da TB. Entre os resultados de resistência à RIF detectados pelo GeneXpert, três foram sensíveis à RIF pelo método de TSA, sendo então resultados falso-positivos.
Rufai et al. ³² , 2015	All India Institute of Medical Sciences, Nova Delhi, Índia	O método GeneXpert MTB/RIF tem pouca sensibilidade em amostras de líquido pleural e não deve ser recomendado para a detecção de TB pleural, particularmente em ambientes de alta carga de TB.
Miller et al. ²¹ , 2011	University of North Carolina Health Care, Carolina do Norte, EUA	A sensibilidade, em termos gerais, foi maior para o GeneXpert MTB/RIF, devido a uma melhor detecção de espécimes com baciloscopia negativa, embora a análise não tenha sido estatisticamente significativa.
Helb et al. ¹⁷ , 2010	Pham Ngoc Thach Hospital, Cidade de Ho Chi Minh, Vietnã	O GeneXpert MTB/RIF pode detectar rapidamente a presença de <i>M. tuberculosis</i> e identificar as mutações associadas à resistência à RIF, tanto em amostras com baciloscopia negativa como em baciloscopia positiva. A natureza da amostra pode influenciar o teste; o congelamento pode alterar a viscosidade do escarro e melhorar a recuperação do ácido nucleico das micobactérias.
Huh et al. ²⁶ , 2014	Samsung Medical Center, Coreia do Sul	O ensaio GeneXpert é uma ferramenta adequada para a exclusão da doença em pacientes com baixa probabilidade de TB pulmonar. Na detecção da resistência à RIF, o método obteve um bom desempenho. Diferenças significativas foram encontradas no desempenho do GeneXpert quando utilizado em amostras com alta suspeita de TB e nas clínicamente indeterminadas. Possui desempenho variável, de acordo com as diferentes aplicações clínicas.
Sohn et al. ¹⁶ , 2014	University Hospital Tuberculosis Clinic, Montreal, Canadá	O impacto do GeneXpert é limitado a regiões com baixa incidência da doença e altos recursos ambulatoriais. Reforça a recomendação do Canadian Tuberculosis Standards, que permite o uso do GeneXpert MTB/RIF em laboratórios, mas adverte que não deve substituir esfregaços e culturas convencionais. Ademais, recomenda que os resultados sejam confirmados por esfregaços e culturas.
Atehortúa et al. ²⁵ , 2015	Hospital Universitario San Vicente Fundación, Medellín, Colômbia	O teste GeneXpert MTB/RIF é uma ferramenta adicional para o diagnóstico da TB pulmonar em países em desenvolvimento. Ele mostra uma melhor performance em amostras com baciloscopia negativa do que foi previamente relatado na literatura. Já o resultado de resistência à RIF, por meio da identificação de mutações no gene <i>rpoB</i> , corrobora os resultados do teste fenotípico.
Tortoli et al. ³⁰ , 2012	San Raffaele Scientific Institute, Itália	O diagnóstico da TB, especialmente da extrapulmonar, baseia-se na combinação de vários testes. Entre os testes rápidos investigados, a sensibilidade do GeneXpert foi duas vezes maior em comparação com a baciloscopia, duplicando assim a proporção de diagnósticos rápidos.
Vadwai et al. ³¹ , 2011	Mumbai, Índia	Os resultados desse estudo sugerem que o teste GeneXpert tem bom potencial para o diagnóstico de TB extrapulmonar e que sua facilidade de uso o torna aplicável para os países onde a TB é endêmica.
Iram et al. ¹⁸ , 2015	Allama Iqbal Medical College, Lahore, Paquistão	O GeneXpert MTB/RIF é um método sensível para o diagnóstico rápido da TB, especialmente em esfregaços negativos, sendo mais eficaz do que a baciloscopia convencional. Para os países endêmicos da doença, o GeneXpert pode servir como uma sensível modalidade diagnóstica da TB pulmonar e extrapulmonar.
Park et al. ²⁹ , 2013	Um hospital de cuidados terciários, Seul, Coreia do Sul	O GeneXpert obteve melhor sensibilidade em relação ao ensaio Cobas em amostras com baciloscopia negativa. O ensaio Cobas, por sua vez, teve desempenho melhor em amostras com baciloscopia positiva. O ensaio Cobas requer descontaminação e concentração da amostra; já o GeneXpert é totalmente automatizado com um sistema fechado, o que reduz o tempo. Em conclusão, o desempenho do GeneXpert foi ligeiramente inferior ao ensaio Cobas.

Quadro 4 – Conclusões acerca do método GeneXpert em diversos estudos

Os artigos encontrados apontaram bom desempenho do método molecular GeneXpert no diagnóstico da TB, porém os valores de sensibilidade para a detecção do bacilo variaram entre os diversos autores^{10,13,16,17,18}. A cultura e a baciloscopia foram as técnicas mais empregadas na comparação ou na confirmação dos resultados obtidos por meio do GeneXpert. Outras técnicas moleculares, como o LightCycler® Mycobacterium Detection (LCTB), IS6110 TaqMan, Gen-Probe's, Genotype MDRTB-plus, IS6110 LDT (*laboratory-developed test*), Cobas TaqMan MTB

e ProbeTec ET-DTB, foram utilizadas para comparar a atuação do GeneXpert.

Quando comparado a outra metodologia molecular, no estudo de Miller et al.²¹, foi observada uma diferença nos desempenhos do GeneXpert MTB/RIF com o ensaio LDT IS6110 PCR para amostras de cultura positiva. O IS6110 LDT detectou apenas 22% das amostras, enquanto o GeneXpert MTB/RIF detectou 67%. No estudo de Park et al.²⁹, o GeneXpert foi ligeiramente melhor do que o ensaio molecular Cobas TaqMan MTB na identificação do bacilo em

amostras com bacilosscopia negativa; porém a técnica de comparação superou o GeneXpert nas análises de amostras com bacilosscopia positiva. Os autores ainda relataram que o ensaio Cobas, ao contrário do GeneXpert, requer a descontaminação e concentração das amostras, aumentando, assim, o tempo de execução dessa técnica.

Antonenka et al.³³ compararam o GeneXpert com outras duas técnicas moleculares, o Cobas TaqMan MTB e o ProbeTec ET-DTB, avaliando o desempenho e o tempo de processamento das técnicas. O ProbeTec obteve melhor sensibilidade e o Cobas melhor especificidade, superando assim o GeneXpert, que apresentou dois resultados falso-positivos; porém o GeneXpert alcançou maior desempenho em relação ao Cobas na detecção do complexo MTB em amostras com cultura e bacilosscopia positivas. Entre os pontos positivos do GeneXpert relatados nesse estudo, está o fato de que essa metodologia pode ser empregada em laboratórios que dispõem de pouco pessoal treinado e possuem restrições de recursos e tecnologia³³.

Embora a maioria dos artigos tenha reportado amostras pulmonares, alguns estudos mostraram boa performance do método GeneXpert em amostras extrapulmonares^{2,10,13,23,31}, mas Rufai et al.³² não apontaram boa eficácia do mesmo em amostras de fluido pleural. Em pesquisa desenvolvida por Rzechorzek et al.³⁴, na qual foram analisadas biópsias de 23 pacientes, o GeneXpert identificou o bacilo em uma das amostras, sendo que esse resultado foi concordante com os exames histopatológicos. Embora o estudo tenha utilizado poucas amostras, os autores destacaram o fato do GeneXpert não ter originado nenhum resultado inválido.

De acordo com Maynard-Smith et al.³⁵, o desempenho do GeneXpert em amostras extrapulmonares ainda não é claro, e estudos seriam necessários para expandir a base de evidências do uso do ensaio molecular para o diagnóstico da TB extrapulmonar em diferentes contextos epidemiológicos; entretanto, os dados atuais já fornecem o suporte para a implementação desse método em amostras extrapulmonares.

A análise de amostras sanguíneas pelo GeneXpert mostrou ser possível em um estudo que utilizou uma solução tampão de lise para o processamento das amostras, removendo possíveis substâncias inibidoras da PCR e melhorando, assim, o desempenho do método³⁶. Em uma pesquisa que utilizou amostras pulmonares e extrapulmonares, congeladas por um período de 10 anos, com bacilosscopia negativa, a sensibilidade ficou um pouco abaixo de outros estudos com amostras não congeladas³⁷. A incubação das amostras durante certo período pode influenciar a análise do GeneXpert; amostras incubadas por até 72 h não interferiram na detecção da doença, porém a incubação por um tempo superior a 24 h pode originar resultados falso-resistentes à RIF³⁸.

Os países pertencentes à lista de prioridade da TB, segundo a OMS, foram objetos de estudo em 51,1%

dos artigos pesquisados. Para desenvolver um aparelho como o GeneXpert, são necessários investimentos e alta tecnologia, e os países não prioritários para a doença têm interesse em pesquisar sua eficácia; mas, de fato, a sua aplicação se dá em países em desenvolvimento, que detêm uma carga elevada da doença. Dorman et al.³⁹ observaram que as características de desempenho do GeneXpert podem ser diferentes quando o mesmo é implementado em um cenário em que poucas pessoas têm a doença, como nos EUA, comparado a quando aplicado para a detecção passiva em países de alta carga da doença.

O GeneXpert foi desenvolvido com o intuito de substituir a bacilosscopia. Nos estudos realizados por Iram et al.¹⁸ e Tortoli et al.³⁰, foi constatado que esse método molecular atingiu melhores resultados, podendo substituí-la. Entretanto, Balcha et al.²⁴ e Weyer et al.⁴⁰ sugeriram que o GeneXpert seja utilizado de forma adjunta à bacilosscopia. Habib et al.⁴¹ relataram que, em pacientes grávidas, o GeneXpert obteve melhor sensibilidade, detectando a doença com maior rapidez, com destaque para os casos com bacilosscopia negativa.

Weyer et al.⁴⁰ afirmaram que o desempenho do GeneXpert é bastante favorável para populações vulneráveis que necessitam de tratamento enquanto aguardam os resultados convencionais. Na África do Sul, um estudo sugeriu a ampliação da utilização do GeneXpert como um substituto para a bacilosscopia em países com alta carga de TB e, principalmente, para populações especiais, como crianças e adultos vivendo com HIV, população indígena e encarcerados⁴². Nduba et al.⁴³ sugeriram ainda a metodologia GeneXpert para implementação do diagnóstico em adolescentes com bacilosscopia negativa, uma vez que a detecção pelo exame direto é baixa nessa população e a prevalência de TB é elevada, com a maioria dos casos não detectados rotineiramente. Anderson et al.⁴⁴, relataram a alta especificidade do GeneXpert na detecção da TB infantil, porém a sensibilidade do ensaio nessa faixa etária foi limitada.

De acordo com Muyoyeta et al.⁴⁵, a recomendação da OMS para o uso do GeneXpert para pacientes HIV positivos suscita problemas éticos e de recursos. Pacientes com bacilosscopia negativa que não têm HIV associado devem também ser considerados para teste com o GeneXpert, o que pode evitar atrasos no diagnóstico e a contínua transmissão da doença a partir desses doentes. No entanto, a viabilidade de tal estratégia exigiria enormes recursos para testar um grande número de pacientes sem associação com o HIV e com bacilosscopia negativa.

O ensaio molecular demonstrou bom desempenho na detecção do bacilo em amostras com bacilosscopia negativa^{8,21,25}, porém Rachow et al.²⁸ apontaram a necessidade de mais estudos para averiguar a ação do GeneXpert em esfregaços negativos.

A técnica é considerada simples, exigindo treinamento pessoal mínimo e o seu custo é equivalente a outras técnicas moleculares. Muitos estudos relataram

a rapidez e simplicidade do método^{37,39,46,47,48}, o início do tratamento precoce^{45,49,50,51}, a diminuição do número de contaminações cruzadas⁵², o aumento do número de casos positivos não detectados por baciloskopía ou cultura^{18,37} e se tratar de um método sensível e específico^{53,54}. Além disso, ao contrário da baciloskopía, as etapas de pipetagem manual e a parte automatizada do ensaio não geram aerossóis viáveis, resultando em riscos biológicos mínimos^{20,22}; e o desempenho do teste pode ser menos dependente da habilidade do usuário, motivação ou carga de trabalho da baciloskopía¹¹. Banada et al.³⁸ avaliaram os riscos biológicos do GeneXpert e, segundo os autores, o sistema fechado, automatizado e os cartuchos reduzem os riscos de formação de aerossóis viáveis, fazendo desse método a ferramenta ideal para os laboratórios que não dispõem de instalações de segurança biológica.

No estudo de Dorman et al.³⁹, o número de testes falso-positivos do GeneXpert foi baixo e, quando comparado com a cultura por MGIT, sua sensibilidade foi menor. No entanto, os autores concluíram que a facilidade de uso do GeneXpert pode ser um ganho. De fato, a cultura líquida continua a ser o padrão-ouro para o diagnóstico de TB. Métodos moleculares atuais também não são ainda capazes de suplantar a cultura e o TSA⁵⁵.

Durante o tratamento, o paciente deve ser monitorado com testes convencionais, uma vez que a metodologia do GeneXpert não é indicada para o controle de tratamento, pois o teste detecta DNA de bacilos viáveis e não viáveis, sendo esse um dos pontos negativos do GeneXpert^{13,40}.

O ensaio ainda pode detectar mutações silenciosas, que não conferem resistência à RIF, sendo também um resultado falso-positivo, o que reforça as recomendações da OMS para a confirmação dos casos de RIF resistente por métodos genotípicos e/ou fenotípicos^{14,15}. Somoskovi et al.⁵⁶ salientaram que o diagnóstico da multirresistência não pode ser baseado em um único teste, mas deve ser sempre estabelecido por uma avaliação e verificação completa de todos os dados clínicos e laboratoriais.

Outro fato é que o GeneXpert precisa de alguns requisitos para sua instalação, como um ambiente com fonte estável de energia elétrica e temperatura entre 2–28 °C, para garantir o bom funcionamento do equipamento e a estabilidade dos cartuchos e reagentes⁵⁷. Dentre outros pontos citados como desfavoráveis, podem ser observados: o custo, que impossibilita, por muitas vezes, a repetição dos testes^{37,57,58,59}; a detecção de falso-positivos e falso-negativos durante o estudo⁴⁹; o número de erros e resultados inválidos; as amostras com volume insuficiente (menos de 1 mL); e as amostras que apresentam vestígios de sangue pesados ou resíduos de alimentos e têm que ser examinadas por baciloskopía⁴⁶.

Para a detecção de resistência à RIF, o GeneXpert tem apresentado bom desempenho²⁶, fornecendo resultados precisos, que permitem o início rápido do

tratamento, enquanto são aguardados os resultados de cultura e TSA⁵³. Marlowe et al.⁷, Scott et al.²⁷ e McAlister et al.¹⁴ obtiveram resultados falso-positivos na detecção da resistência à RIF pelo método GeneXpert, apontando as mutações silenciosas como as causadoras desses resultados. Sohn et al.¹⁶ e Zeka et al.¹⁹ apontaram a necessidade de confirmar os resultados do GeneXpert com a cultura e o TSA. Weyer et al.⁴⁰ sugeriram o teste GeneXpert para indivíduos em risco de resistência a drogas e relataram que deve ser utilizado como teste de diagnóstico inicial, uma vez que, comparado com o TSA convencional, o GeneXpert identificou corretamente 97,6% dos pacientes com cepas resistentes à RIF e 98,1% daquelas sensíveis à RIF.

Diversos estudos mostraram-se cautelosos em relação ao custo da tecnologia⁶⁰, infraestrutura existente e ao desafio de resultados falso-positivos para resistência à RIF. Em contrapartida, os métodos convencionais também apresentam limitações, uma vez que não há método perfeito para o diagnóstico da TB⁴⁰. Dessa forma, inovações em tecnologia podem contribuir para que a eliminação da TB seja viável nos próximos anos, e as políticas devem avaliar os benefícios para o paciente e para a saúde pública, combinando os métodos já existentes com as novas metodologias na atenção ao doente com TB⁵⁷.

De modo geral, as conclusões dos artigos levantados apontaram fatores positivos do método, como a eficiência do teste no diagnóstico da TB, a simples execução da técnica, requerendo pouco treinamento pessoal, o baixo risco de acidentes e contaminação, a rapidez dos resultados, além do custo similar ao de outras técnicas que utilizam PCR.

Por meio do levantamento dos artigos relacionados ao GeneXpert, é evidente a carência de mais estudos acerca desse método, principalmente utilizando amostras extrapulmonares. Trabalhos adicionais podem esclarecer alguns pontos, como a superioridade do GeneXpert sobre a baciloskopía e o seu uso em amostras extrapulmonares, já que os estudos citados apresentaram divergências entre si em relação a esses pontos.

CONCLUSÃO

Para a identificação precoce dos casos de TB, um rápido e eficaz diagnóstico se faz necessário. Para isso, técnicas específicas, com alta sensibilidade e realizadas em um curto período devem ser empregadas. O GeneXpert MTB/RIF é o mais novo método preconizado pelo MS, sendo proposto para substituir a baciloskopía; entretanto, por critério prévio, apenas alguns municípios brasileiros dispõem dessa metodologia.

Entre os pontos positivos do GeneXpert, está a identificação simultânea do DNA do complexo MTB e de mutações relacionadas à resistência à RIF, utilizando a técnica de PCR em tempo real, integrados em um único cartucho descartável, que fornece resultados dentro de 2 h. O ensaio é composto de um sistema automatizado, sendo que a única etapa manual é o

processamento da amostra com um reagente tampão, evitando, assim, os riscos relacionados à biossegurança e à contaminação das amostras e do equipamento.

O método apresenta boa sensibilidade e especificidade na identificação do bacilo, sendo uma ferramenta rápida para o diagnóstico de novos casos da doença. Em relação à resistência à RIF, poucos estudos avaliaram o desempenho do GeneXpert.

Alguns estudos concluem que o GeneXpert não elimina a necessidade de métodos bacteriológicos

tradicionalis (baciloscoopia, cultura e TSA) e de outros métodos moleculares rápidos. Além disso, o aparelho que está disponibilizado para alguns dos municípios brasileiros tem a capacidade de realizar apenas quatro exames a cada 2 h.

Portanto, muitos pontos positivos são encontrados nesse inovador teste molecular rápido. Entretanto, a realização de mais estudos irá melhorar o entendimento acerca do GeneXpert MTB/RIF e contribuir para o diagnóstico da TB.



REFERÊNCIAS

- 1 Wildner LM, Nogueira CL, Souza BS, Senna SG, Silva RM, Bazzo ML. Micobactérias: epidemiologia e diagnóstico. *Rev Patol Trop.* 2011 jul-set;40(3):207-29.
- 2 Patel VB, Theron G, Lenders L, Matinyena B, Connolly C, Singh R, et al. Diagnostic accuracy of quantitative PCR (Xpert MTB/RIF) for tuberculous meningitis in a high burden setting: a prospective study. *PLoS Med.* 2013 Oct;10(10):e1001536.
- 3 World Health Organization. Global tuberculosis report 2014 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2014 [cited 2015 Dec 27]. Available from: http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr14_main_text.pdf.
- 4 Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. O controle da tuberculose no Brasil: avanços, inovações e desafios. *Bol Epidemiol* [Internet]. 2014 [citado 2015 dez 27];44(2):1-13. Disponível em: <http://www.suvisa.ba.gov.br/sites/default/files/Boletim-Tuberculose-2014.pdf>.
- 5 Ministério da Saúde (BR). Rede Brasileira de Avaliação Tecnologia e Saúde. XPERT® MTB/RIF no diagnóstico da tuberculose pulmonar. BRATS [Internet]. 2011 set [citado 2015 dez 27];4(16):1-14. Disponível em: <http://rebrats.saude.gov.br/institucional/brats?download=92:n-16-xpert-mtb-rif-no-diagnostico-da-tuberculose-pulmonar>.
- 6 Durovni B, Saraceni V, van den Hof S, Trajman A, Cordeiro-Santos M, Cavalcante S, et al. Impact of replacing smear microscopy with Xpert MTB/RIF for diagnosing tuberculosis in Brazil: a stepped-wedge cluster-randomized trial. *PLoS Med.* 2014 Dec;11(12):e1001766.
- 7 Marlowe EM, Novak-Weekley SM, Cumpio J, Sharp SE, Momeny MA, Babst A, et al. Evaluation of the cepheid Xpert MTB/RIF assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory specimens. *J Clin Microbiol.* 2011 Apr;49(4):1621-3.
- 8 Ioannidis P, Papaventis D, Karabela S, Nikolaou S, Panagi M, Raftopoulou E, et al. Cepheid GeneXpert MTB/RIF assay for *Mycobacterium tuberculosis* detection and rifampin resistance identification in patients with substantial clinical indications of tuberculosis and smear-negative microscopy results. *J Clin Microbiol.* 2011 Aug;49(8):3068-70.
- 9 Tadesse M, Abebe G, Abdissa K, Aragaw D, Abdella K, Bekele A, et al. GeneXpert MTB/RIF assay for the diagnosis of tuberculous lymphadenitis on concentrated fine needle aspirates in high tuberculosis burden settings. *PLoS One.* 2015 Sep;10(9):e0137471.
- 10 Armand S, Vanhuls P, Delcroix G, Courcol R, Lemaître N. Comparison of the Xpert MTB/RIF test with an IS6110-TaqMan real-time PCR assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory and nonrespiratory specimens. *J Clin Microbiol.* 2011 May;49(5):1772-6.
- 11 Boehme CC, Nicol MP, Nabeta P, Michael JS, Gotuzzo E, Tahirli R, et al. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study. *Lancet.* 2011 Apr;377(9776):1495-505.
- 12 Huf G, Kritski A. Avaliação da utilidade clínica de novos testes diagnósticos em tuberculose: o papel dos ensaios clínicos pragmáticos. *J Bras Pneumol.* 2012 mar-abr;38(2):237-45.
- 13 Vallejo V P, Rodríguez D JC, Searle M A, Farga C V. Ensayo Xpert MTB/RIF en el diagnóstico de tuberculosis. *Rev Chil Enferm Respir.* 2015 jun;31(2):127-31.
- 14 McAlister AJ, Driscoll J, Metchock B. DNA sequencing for confirmation of rifampin resistance detected by cepheid Xpert MTB/RIF assay. *J Clin Microbiol.* 2015 May;53(5):1752-3.

- 15 Mokaddas E, Ahmad S, Eldeen HS, Al-Mutairi N. Discordance between Xpert MTB/RIF assay and Bactec MGIT 960 culture system for detection of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in a country with a low tuberculosis (TB) incidence. *J Clin Microbiol.* 2015 Apr;53(4):1351-4.
- 16 Sohn H, Aero AD, Menzies D, Behr M, Schwartzman K, Alvarez GG, et al. Xpert MTB/RIF testing in a low tuberculosis incidence, high-resource setting: limitations in accuracy and clinical impact. *Clin Infect Dis.* 2014 Apr;58(7):970-6.
- 17 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 Jan;48(1):229-37.
- 18 Iram S, Zeenat A, Hussain S, Yusuf NW, Aslam M. Rapid diagnosis of tuberculosis using Xpert MTB/RIF assay - Report from a developing country. *Pak J Med Sci.* 2015 Jan-Feb;31(1):105-10.
- 19 Zeka AN, Tasbakan S, Cavusoglu C. Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin resistance in pulmonary and extrapulmonary specimens. *J Clin Microbiol.* 2011 Dec;49(12):4138-41.
- 20 Teo J, Jureen R, Chiang D, Chan D, Lin R. Comparison of two nucleic acid amplification assays, the Xpert MTB/RIF assay and the amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct assay, for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory and nonrespiratory specimens. *J Clin Microbiol.* 2011 Oct;49(10):3659-62.
- 21 Miller MB, Popowitch EB, Backlund MG, Ager EPC. Performance of Xpert MTB/RIF RUO assay and IS6110 real-time PCR for *Mycobacterium tuberculosis* detection in clinical samples. *J Clin Microbiol.* 2011 Oct;49(10):3458-62.
- 22 Bowles EC, Freyée B, van Ingen J, Mulder B, Boeree MJ, van Soolingen D. Xpert MTB/RIF®, a novel automated polymerase chain reaction-based tool for the diagnosis of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2011 Jul;15(7):988-9.
- 23 Sekadde MP, Wobudeya E, Joloba ML, Ssengooba W, Kisembo H, Bakeera-Kitaka S, et al. Evaluation of the Xpert MTB/RIF test for the diagnosis of childhood pulmonary tuberculosis in Uganda: a cross-sectional diagnostic study. *BMC Infect Dis.* 2013 Mar;13(133):1-8.
- 24 Balcha TT, Sturegård E, Winqvist N, Skogmar S, Reepalu A, Jemal ZH, et al. Intensified tuberculosis case-finding in HIV-positive adults managed at Ethiopian health centers: diagnostic yield of Xpert MTB/RIF compared with smear microscopy and liquid culture. *PLoS One.* 2014 Jan;9(1):e85478.
- 25 Atehortúa S, Ramírez F, Echeverri LM, Peñata A, Ospina S. Xpert MTB/RIF test performance assay in respiratory samples at real work settings in a developing country. *Biomedica.* 2015 jan-mar;35(1):125-30.
- 26 Huh HJ, Jeong BH, Jeon K, Koh WJ, Ki CS, Lee NY. Performance evaluation of the Xpert MTB/RIF assay according to its clinical application. *BMC Infect Dis.* 2014 Nov;14(589):1-6.
- 27 Scott LE, McCarthy K, Gous N, Nduna M, Van Rie A, Sanne I, et al. Comparison of Xpert MTB/RIF with other nucleic acid technologies for diagnosing pulmonary tuberculosis in a high HIV prevalence setting: a prospective study. *PLoS Med.* 2011 Jul;8(7):e1001061.
- 28 Rachow A, Zumla A, Heinrich N, Rojas-Ponce G, Mtafya B, Reither K, et al. Rapid and accurate detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum samples by cepheid Xpert MTB/RIF assay — a clinical validation study. *PLoS One.* 2011 Jun;6(6):e20458.
- 29 Park KS, Kim JY, Lee JW, Hwang YY, Jeon K, Koh WJ, et al. Comparison of the Xpert MTB/RIF and Cobas TaqMan MTB assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory specimens. *J Clin Microbiol.* 2013 Oct;51(10):3225-7.
- 30 Tortoli E, Russo C, Piersimoni C, Mazzola E, Dal Monte P, Pasarella M, et al. Clinical validation of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Eur Respir J.* 2012 Aug;40(2):442-7.
- 31 Vadwai V, Boehme C, Nabeta P, Shetty A, Alland D, Rodrigues C. Xpert MTB/RIF: a new pillar in diagnosis of extrapulmonary tuberculosis? *J Clin Microbiol.* 2011 Jul;49(7):2540-5.
- 32 Rufai SB, Singh A, Kumar P, Singh J, Singh S. Performance of Xpert MTB/RIF assay in diagnosis of pleural tuberculosis by use of pleural fluid samples. *J Clin Microbiol.* 2015 Nov;53(11):3636-8.
- 33 Antonenka U, Hofmann-Thiel S, Turaev L, Esenalieva A, Abdulloeva M, Sahalchik E, et al. Comparison of Xpert MTB/RIF with ProbeTec ET DTB and COBAS TaqMan MTB for direct detection of *M. tuberculosis* complex in respiratory specimens. *BMC Infect Dis.* 2013 Jun;13(280):1-6.
- 34 Rzechorzek W, Szańkowska M, Szczepankiewicz B, Cyran-Chlebicka A, Safianowska A. Detecting *Mycobacterium tuberculosis* complex DNA, based on post-mortem examination of hilar lymph nodes with real-time PCR: initial study. *Pneumol Alergol Pol.* 2014;82(5):430-6.
- 35 Maynard-Smith L, Larke N, Peters JA, Lawn SD. Diagnostic accuracy of the Xpert MTB/RIF assay for extrapulmonary and pulmonary tuberculosis when testing non-respiratory samples: a systematic review. *BMC Infect Dis.* 2014 Dec;14(709):1-15.

- 36 Banada PP, Koshy R, Alland D. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in blood by use of the Xpert MTB/RIF assay. *J Clin Microbiol*. 2013 Jul;51(7):2317-22.
- 37 Moure R, Muñoz L, Torres M, Santin M, Martín R, Alcaide F. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and rifampin resistance in smear-negative clinical samples by use of an integrated real-time PCR method. *J Clin Microbiol*. 2011 Mar;49(3):1137-9.
- 38 Banada PP, Sivasubramani SK, Blakemore R, Boehme C, Perkins MD, Fennelly K, et al. Containment of bioaerosol infection risk by the Xpert MTB/RIF assay and its applicability to point-of-care settings. *J Clin Microbiol*. 2010 Oct;48(10):3551-7.
- 39 Dorman SE, Chihota VN, Lewis JJ, Shah M, Clark D, Grant AD, et al. Performance characteristics of the cepheid Xpert MTB/RIF test in a tuberculosis prevalence survey. *PLoS One*. 2012 Aug;7(8):e43307.
- 40 Weyer K, Mirzayev F, Migliori GB, Van Gemert W, D'Ambrosio L, Zignol M, et al. Rapid molecular TB diagnosis: evidence, policy making and global implementation of Xpert MTB/RIF. *Eur Respir J*. 2013 Jul;42(1):252-71.
- 41 Habib ZG, Dayyab FM, Sanda A, Tambuwal SH, Dalhat MM, Muhammad H, et al. Role of GeneXpert MTB/Rif assay in diagnosing tuberculosis in pregnancy and puerperium. *Case Rep Infect Dis*. 2015;2015(794109):1-5.
- 42 Churchyard GJ, Mametja LD, Mvusi L, Ndjeka N, Hesseling AC, Reid A, et al. Tuberculosis control in South Africa: successes, challenges and recommendations. *S Afr Med J*. 2014 Mar;104(3 Suppl 1):244-8.
- 43 Nduba V, Hoog AHV, Mitchell E, Onyango P, Laserson K, Borgdorff M. Prevalence of tuberculosis in adolescents, western Kenya: implications for control programs. *Int J Infect Dis*. 2015 Jun;35:11-7.
- 44 Anderson ST, Kaforou M, Brent AJ, Wright VJ, Banwell CM, Chagaluka G, et al. Diagnosis of childhood tuberculosis and host RNA expression in Africa. *N Engl J Med*. 2014 May;370(18):1712-23.
- 45 Muyoyeta M, Moyo M, Kasese N, Ndhlovu M, Milimo D, Mwanza W, et al. Implementation research to inform the use of Xpert MTB/RIF in primary health care facilities in high TB and HIV settings in resource constrained settings. *PLoS One*. 2015 Jun;10(6):e0126376.
- 46 Durovni B, Saraceni V, Cordeiro-Santos M, Cavalcante S, Soares E, Lourenço C, et al. Operational lessons drawn from pilot implementation of Xpert MTB/Rif in Brazil. *Bull World Health Organ*. 2014 Aug;92(8):613-7.
- 47 Menzies NA, Cohen T, Lin HH, Murray M, Salomon JA. Population health impact and cost-effectiveness of tuberculosis diagnosis with Xpert MTB/RIF: a dynamic simulation and economic evaluation. *PLoS Med*. 2012 Nov;9(11):e1001347.
- 48 Cauda R. Gene Xpert MTB/RIF assay confirms its value in the first multicentre, randomised, controlled trial conducted in primary-care settings in Africa. *Pathog Glob Health*. 2014 Apr;108(3):127.
- 49 Asencio Egea MA, Huertas Vaquero M, Carranza González R, Castellanos Monedero J, Franco Huerta M, Bravo Nieto JM, et al. Impacto económico de la introducción de una técnica de detección precoz de *Mycobacterium tuberculosis* complex en las muestras clínicas de un hospital español. *Rev Esp Salud Publica*. 2013 jul-ago;87(4):419-25.
- 50 Smith P, van Esch A, Wallace M, Wood R, Bekker LG. GeneXpert TB 8: a point-of-care diagnostic pilot. *S Afr Med J*. 2014 Aug;104(8):524.
- 51 Davis JL, Kawamura LM, Chaisson LH, Grinsdale J, Benhannou J, Ho C, et al. Impact of GeneXpert MTB/RIF on patients and tuberculosis programs in a low-burden setting. A Hypothetical Trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014 Jun;189(12):1551-9.
- 52 Lawn SD, Nicol MP. Xpert® MTB/RIF assay: development, evaluation and implementation of a new rapid molecular diagnostic for tuberculosis and rifampicin resistance. *Future Microbiol*. 2011 Sep;6(9):1067-82.
- 53 Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme CC, Dendukuri N. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Jan;21(1):CD009593.
- 54 Patil N, Saba H, Marco A, Samant R, Mukasa L. Initial experience with GeneXpert MTB/RIF assay in the Arkansas Tuberculosis Control Program. *Australas Med J*. 2014 May;7(5):203-07.
- 55 Vittor AY, Garland JM, Gilman RH. Molecular diagnosis of TB in the HIV positive population. *Ann Glob Health*. 2014 Nov-Dec;80(6):476-85.
- 56 Somoskovi A, Deggim V, Ciardo D, Bloomberg GV. Diagnostic implications of inconsistent results obtained with the Xpert MTB/Rif assay in detection of *Mycobacterium tuberculosis* isolates with an *rpoB* mutation associated with low-level rifampin resistance. *J Clin Microbiol*. 2013 Sep;51(9):3127-9.
- 57 Dowdy DW, Davis JL, den Boon S, Walter ND, Katamba A, Cattamanchi A. Population-level impact of same-day microscopy and Xpert MTB/RIF for tuberculosis diagnosis in Africa. *PLoS One*. 2013 Aug;8(8):e70485.

- 58 Abdurrahman ST, Mbanaso O, Lawson L, Oladimeji O, Blakiston M, Obasanya J, et al. Testing pooled sputum with Xpert MTB/RIF for the diagnosis of pulmonary tuberculosis to increase affordability in low-income countries. *J Clin Microbiol.* 2015 Aug;53(8):2502-8.
- 59 Wekesa C, Kirenga BJ, Joloba ML, Bwanga F, Katamba A, Kamya MR. Chest X-ray vs. Xpert® MTB/RIF assay for the diagnosis of sputum smear-negative tuberculosis in Uganda. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2014 Feb;18(2):216-9.
- 60 Barreto LBPF, Lourenço MCS, Rolla VC, Veloso VG, Huf G. Utilização do *amplified Mycobacterium tuberculosis direct test* em amostras respiratórias de pacientes HIV positivos no Brasil. *J Bras Pneumol.* 2014 mar-abr;40(2):148-54.

Recebido em / Received: 29/1/2016
Aceito em / Accepted: 6/10/2016