

Data de Submissão: 25/03/2017
Data de Aprovação: 12/05/2017

ARTIGO ORIGINAL

Diagnóstico laboratorial da tuberculose na infância

Laboratorial diagnosis of Childhood tuberculosis

Maria de Fátima B. Pombo March¹, Rafaela Baroni Aurílio²

Palavras-chave:

criança,
diagnóstico,
tuberculose

Resumo

Em 1993, a tuberculose (TB) passou a ser reconhecida, pela Organização Mundial da Saúde (OMS), como uma emergência global e, em 2014, a estimativa foi de 1 milhão de casos de tuberculose na faixa etária pediátrica, e nas Américas, cerca de 10.000 casos. O diagnóstico na faixa etária pediátrica no Brasil ainda se baseia no sistema de pontuação do Ministério da Saúde (sobretudo entre os menores de 10 anos), entretanto, novos métodos laboratoriais, bacteriológicos e imunológicos têm sido propostos na tentativa de contribuir para o diagnóstico da TB. O *Xpert MTB-Rif system* (TRM-TB) é um método rápido que busca comprovação bacteriológica. Baseado no PCR em tempo real é capaz de detectar fragmentos de *M. tuberculosis* (em secreções respiratórias, gânglios e líquido) e de identificar resistência à rifampicina (RMP). Na faixa etária pediátrica, a sua utilização como método diagnóstico rotineiro ainda é controverso, pela sua baixa sensibilidade. Os principais métodos imunológicos cujo objetivo é determinar se há ou não infecção pelo *M. tuberculosis* são: a prova tuberculínica e o *Interferon Gamma Release Assay* (ensaio de detecção de interferon gama) ou IGRA. O resultado negativo destes testes não exclui a TB doença nem seu resultado positivo a confirma. O presente artigo apresenta revisão sobre o papel dos testes Xpert, prova tuberculínica e IGRAs na infância.

Keywords:

tuberculosis,
laboratory test,
diagnosis,
child.

Abstract

In 1993, tuberculosis (TB) was recognized by the World Health Organization (WHO) as a global emergency, and in 2014, an estimated one million cases of TB were reported in the pediatric age group, and approximately 10,000 cases in the Americas. Diagnosis in the pediatric age group in Brazil is still based on the Ministry of Health's score system (particularly in children younger than 10 years of age). However, new bacteriological and immunological methods have been proposed for the diagnosis of TB. The Xpert MTB-Rif system (RMT-TB) is a fast method that is used for bacteriological proof. This real-time PCR-based system allows the detection of fragments of *M. tuberculosis* in respiratory secretions, ganglia, and cerebrospinal fluid, and the identification of resistance to rifampicin (RMP). In the pediatric age group, the use of this system in routine diagnostic is still controversial because of its low sensitivity. The main immunological methods used to determine the presence of *M. tuberculosis* infection are the tuberculin skin test and the interferon-gamma release assay (IGRA). Negative results from these tests do not discard TB whereas positive results do not confirm TB. This study reviews the role of the Xpert tests, tuberculin skin test, and IGRAs in children.

¹ Professora Associada da Faculdade de Medicina. Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e Universidade Federal Fluminense.

² Médica. Pneumologista pediátrica. Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IPPMG-UFRJ).

Endereço para correspondência:

Maria de Fátima B. Pombo March.

Departamento Materno Infantil da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense (UFF). Av. Marquês do Paraná, nº 303, Centro. Niterói - RJ, Brasil. País. CEP: 24020-071. E-mail: fmarch@uol.com.br

INTRODUÇÃO

Em 1993, a tuberculose (TB) passou a ser reconhecida, pela Organização Mundial da Saúde (OMS), como uma emergência global, sendo estabelecida a meta de reduzir o coeficiente de incidência da doença, a partir de 1990, até 2015¹. Em 2014, estimava-se a ocorrência de 1 milhão de casos de tuberculose na faixa etária pediátrica, e nas Américas, 10.250 casos (1% do total)².

Segundo dados da OMS, dos 22 países que representam 80% dos casos de TB no mundo, o Brasil ocupa a 18ª posição em carga de TB, representando 0,9% dos casos estimados no mundo e 33% dos estimados para as Américas. Seus coeficientes de mortalidade e incidência foram reduzidos em 38,9% (de 3,6 para 2,2/100 mil habitantes) e 34,1% (51,8 para 34,1/100 mil habitantes), respectivamente, de 1990 até 2014. Apesar da queda nos coeficientes citados, a análise dos indicadores epidemiológicos e operacionais de casos novos e retratamento divulgados no Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde (MS), em 2016, mostrou que o controle da TB continua sendo um desafio no país¹.

Crianças, em sua maioria, desenvolvem a TB primária e são abacilíferas ou paucibacilares (em 80% dos casos o diagnóstico é feito sem comprovação bacteriológica). Além do mais, há limitações inerentes à idade dos pacientes, que em geral são incapazes de expectorar espontaneamente, não permitindo a realização de baciloscopia de escarro³.

Em função dessas limitações, em nosso meio, o diagnóstico de TB em crianças continua sendo feito com base no sistema de pontuação para diagnóstico de TB em crianças e adolescentes, desenvolvido no Brasil e recomendado nas normas nacionais pelo Programa nacional de controle da tuberculose (PNCT) a partir de 2002. Este sistema prescinde de positividade bacteriológica, pois esta é a realidade prática de quem lida com TB na infância em áreas endêmicas.

O sistema adotado pelo MS do Brasil já foi validado em crianças não infectadas por HIV e chegou a ser analisado com êxito em crianças infectadas por HIV. É considerado um método auxiliar para diagnóstico de TB pulmonar (TP) em crianças atendidas em unidades de saúde de baixa complexidade, que contem, idealmente, com pessoal treinado nesse tema^{4,5}. Baseia-se no fato de que o diagnóstico de TP em crianças é realizado por meio de critérios clínico-radiológicos, epidemiológicos e pela prova tuberculínica. É preconizado em crianças e em adolescentes (estes com baciloscopia negativa) e assume o diagnóstico como TP muito provável quando tiver o somatório de 40 pontos ou mais; TP possível o somatório de 30 ou 35 pontos; TP pouco provável quando a totalidade de pontos é igual ou inferior a 25 pontos. Quando a pontuação for inferior a 30 a criança deverá continuar a ser investigada. Neste caso, deverá ser feito diagnóstico diferencial com outras doenças pulmonares e podem ser empregados métodos complementares de diagnóstico, como: lavado gástrico, broncoscopia, escarro induzido, punções, e métodos rápidos,

quando pertinentes e de acordo com a disponibilidade dos serviços³.

A coleta de espécimes para exame bacteriológico em lactentes e pré-escolares, quase sempre é possível apenas com o emprego de métodos invasivos, como lavado gástrico e o escarro induzido, uma vez que crianças até os 5 ou 6 anos são quase que incapazes de expectorar. Pelo fato de serem paucibacilíferos, a comprovação bacteriológica dos casos de TP na infância é menor que 20 % dos casos na rotina. Já a cultura para *Mycobacterium tuberculosis* pode chegar a ser positiva em 40 a 50% dos casos, mas seu resultado é tardio, o que inviabiliza o diagnóstico precoce e tratamento da TB em crianças. A partir desta idade pode ser tentada a baciloscopia de escarro e a cultura, sempre que possível^{3,6,7}. Por outro lado, o diagnóstico da TP em adolescentes pode ser comprovado bacteriológicamente na maioria dos casos; pois são formas bacilíferas em sua maioria, conhecidas como do *tipo adulto*.

A baciloscopia de escarro pode ser um método útil, associado aos achados clínico-radiológicos, e deve ser solicitada em todo caso suspeito em adolescentes e, desde que haja possibilidade, está indicado o uso de diagnóstico molecular, denominado *Xpert MTB-Rif system* (TRM-TB) pela rapidez do resultado e pela possibilidade de identificar resistência à rifampicina (RMP)^{3,7}. Na faixa etária pediátrica < 10 anos, a utilização do TRM-TB como método diagnóstico rotineiro ainda é controversa, pela sua baixa sensibilidade, sendo recomendada a aplicação do escore clínico de pontuação do MS em todos os casos, e seu uso como exame complementar, devendo ser empregado sempre que possível.

Existem ainda métodos imunológicos para a confirmação da infecção pelo *M. tuberculosis* que podem auxiliar o diagnóstico da TB na infância e na adolescência. Os principais métodos são: a prova tuberculínica e o *Interferon Gamma Release Assay* (ensaio de detecção de interferon gama) ou IGRA. O objetivo da realização da prova tuberculínica ou IGRA na criança é determinar se há ou não infecção pelo *M. tuberculosis*, enquanto outros fatores como história de contato, quadro clínico e radiológico é que vão permitir o diagnóstico. Assim, o resultado negativo destes testes não exclui a TB doença nem seu resultado positivo a confirma.

O TESTE RÁPIDO MOLECULAR (TRM-TB)

O TRM-TB é um teste baseado na amplificação de ácidos nucleicos utilizado para detecção de *M. tuberculosis* e para triagem de cepas resistentes a fármacos. Utiliza técnica de PCR-*real time*, na plataforma Gene Xpert, que permite integrar três processos: purificação, concentração e amplificação de ácidos nucleicos por reação em cadeia de polimerase (PCR), e na detecção de sequências de ácidos nucleicos no genoma do *M. tuberculosis*, especificamente do gene *rpoB*. Essa técnica não requer manipulação de DNA micobacteriano após amplificação, e, portanto, reduz a complexidade e risco de reação cruzada pela amplificação de produtos de DNA⁸.

te, num período de duas horas, no âmbito laboratorial, não só identificar *M. tuberculosis* como detectar a resistência bacteriana à rifampicina (RMP) pela amplificação, por meio de PCR, de cinco sondas sobrepostas que são complementares à região determinante da resistência à RMP, composta por 81 pares de bases do gene *rpoB* de *M. tuberculosis*. Em seguida, essa região é examinada com objetivo de identificar mutações associadas à resistência³.

É um teste rápido, altamente automatizado, e independente do operador da máquina. O único passo manual envolve a adição da dose correta do reagente no espécime em análise, sendo posteriormente homogeneizado por 15 minutos e transferido para o cartucho do Xpert⁸.

O sistema é composto por um instrumento GeneXpert, um computador, um leitor de códigos de barras e *software* pré-instalado para efetuar testes em amostras colhidas e visualizar os resultados gerados na tela e relatados como *M. tuberculosis* negativo ou positivo e sensível ou não à RMP. Entretanto, um resultado positivo não necessariamente indica a presença de bacilos viáveis, uma vez que o método pode identificar DNA de micro-organismos vivos ou mortos⁹.

Podem ser processados diversos materiais (líquidos orgânicos, aspirados de gânglio periféricos), mas sua maior aplicação é em amostras de escarro, sendo sua maior aplicabilidade em adultos com suspeita de TP¹⁰. Seu uso para amostras extrapulmonares ainda tem uma variação entre diferentes estudos, em termos de sensibilidade e especificidade de acordo com o material analisado, além de considerações relacionadas ao custo-efetividades nessas amostras¹¹.

Não devem ser processadas as seguintes amostras: aquelas constituídas exclusivamente de saliva; que contenham partículas de alimento; constituídas exclusivamente de pus (sem muco e esverdeadas); constituídas exclusivamente de sangue; com quantidade inferior a um (1) ml, no caso de amostras pulmonares e extrapulmonares, exceto líquido cefalorraquidiano (LCR); e amostras de LCR com quantidade inferior a 0,1 ml⁹.

Os valores de sensibilidade e especificidade para um único TRM-TB em adultos se aproximam de 88% (IC 95%: 83-92) e 98% (IC 95%: 97-99), respectivamente. Naqueles com baciloscopia positiva, a sensibilidade fica em torno de 98% (IC 95%: 97-99) e com baciloscopia negativa de 68% (IC 95%: 59-75)¹².

O TRM-TB tem utilização ainda limitada na infância, uma vez que seu excelente desempenho se observa na TB confirmada bacteriologicamente, a minoria de casos em crianças¹⁰. Tem-se evidenciado que, utilizando a cultura como padrão-ouro, a sensibilidade do TRM-TB em um único teste, em crianças menores de 15 anos, é de 42,9-90%, tanto no escarro quanto no escarro induzido^{11,13,14}. Para o lavado gástrico, a sensibilidade é 68,8%¹³ e aspirado nasofaríngeo de 48%¹⁵. A especificidade é semelhante à do adulto (acima de 98%). Um segundo teste em crianças com baciloscopia negativa pode aumentar a sensibilidade do TRM-TB em 27,8%¹¹.

A perspectiva de se ampliar o diagnóstico de TB na infância com o emprego do Gene Xpert ou TRM-TB foi objeto de alguns estudos, desenvolvidos na África do Sul, e em outros países africanos. Evidenciou-se maior positividade do TRM-TB em casos de TP em relação à cultura para *M. tuberculosis* em espécimes, como: lavado gástrico, aspirado nasofaríngeo e escarro induzido. Ficou evidente que o TRM-TB contribui para aumentar a capacidade diagnóstica de TP nos casos de TB confirmada bacteriologicamente^{11,15}.

Na meta-análise realizada por Detjen et al.¹⁶ com estudos que utilizaram o TRM-TB para diagnóstico de TP, em crianças e adolescentes, a sensibilidade e a especificidade do TRM-TB, quando comparados com a cultura, foram de 62% (IC95%: 51-73) e 98% (IC95%: 97-99) no escarro e escarro induzido e para o lavado gástrico 62% (IC95%: 51-73) e 98% (IC95%: 96-99), respectivamente. Quando comparado com a baciloscopia, a sensibilidade do TRM-TB foi maior.

Recentemente, em Nova Deli, na Índia, num estudo envolvendo investigação de casos pediátricos suspeitos de TB em serviços públicos, observou-se que o TRM-TB foi capaz de detectar o dobro de casos de TB pulmonar comparados à baciloscopia, e aumentar a capacidade de detecção da resistência à RMP, sendo um teste rápido e promissor para faixa etária pediátrica¹⁷.

DIAGNÓSTICO IMUNOLÓGICO (PPD E IGRAS)

A prova tuberculínica com PPD, realizada pela técnica de Mantoux, introduzida em 1907, consiste na injeção intradérmica de 5 unidades de tuberculina (TU) de derivado proteico purificado PPD-S (PPD) ou 2 TU PPD RT23 (são equivalentes). Se houver imunidade celular a esses antígenos tuberculínicos, uma reação de hipersensibilidade de tipo retardado ocorrerá dentro de 48 a 72 h.

A reação causará induração da pele no local da injeção, cujo diâmetro transversal deve ser medido (milímetros de induração) por um indivíduo treinado e interpretado usando pontos de corte estratificados: 0 a 4 mm=não reator; 5 ou mais milímetros=reator.

A imunidade medida pela prova tuberculínica também pode refletir a exposição a outras micobactérias ambientais, à vacinação pela BCG (bacilo Calmette-Guérin- *Mycobacterium bovis*) ou a uma infecção prévia por TB. Este tipo de reatividade pode levar a resultados falso-positivos. Por outro lado, resultados falso-negativos podem ocorrer especialmente em imunossuprimidos, por exemplo, com infecção avançada pelo HIV, em uso de medicação imunossupressora, etc.

O IGRAS é um teste *in vitro* que detecta a produção de IFN- γ no sangue periférico pelas células T do hospedeiro infectado pelo *M. tuberculosis*. A identificação das proteínas imunogênicas das micobactérias, os antígenos ESAT-6, CFP-10 e TB 7, que são expressados especificamente por cepas patogênicas do complexo *M. tuberculosis*, permitiu o

desenvolvimento dos IGRAs. Estes antígenos são codificados na região de diferença 1 (RD1) do genoma do *M. tuberculosis*. A RD1 contém genes que codificam o sistema secretivo do bacilo, conhecido como ESX-1. Tais antígenos são bem específicos do *M. tuberculosis*, apesar de haver alguma evidência de reação cruzada com o *Mycobacterium leprae*, ainda não comprovada; já foram evidenciados também resultados positivos de IGRAs em indivíduos infectados com *Mycobacterium marinum* e *Mycobacterium kansasii*.

Há dois tipos de IGRAs. O teste realizado pela metodologia QuantiFERON TB Gold permite a medida dos níveis *in vitro* do IFN- γ produzido por células T que tenham sido estimuladas pelos antígenos citados. O resultado é relatado como quantidade de IFN- γ em unidades internacionais (IU) por mililitro. Um indivíduo é considerado positivo se a quantidade de IFN- γ está acima do ponto de corte do teste (considerando o controle negativo).

Outra metodologia pode ser empregada: o T-SPOT. TB. Trata-se de ensaio imunoenzimático (ELISPOT) realizado em células mononucleares separadas e contadas do sangue periférico que são incubadas com os antígenos ESAT-6 e CFP-10. O resultado é relatado como o número de células T produtoras de IFN- γ (células formadoras de ponto). Um indivíduo é considerado positivo se a contagem de pontos nos antígenos exceder os pontos do controle negativo. Resultados indeterminados IGRAs podem ocorrer devido a uma baixa resposta de IFN- γ do controle positivo (mitógeno) ou elevada do controle negativo. Ainda são necessários estudos sobre este teste em crianças.

Ambos os testes imunológicos têm limitações inerentes às próprias metodologias e fundamentações. Além disso, os IGRAs são ainda pouco estudados em crianças que habitam regiões de alta prevalência de TB ou naquelas infectadas pelo HIV. Alguns estudos sugerem que em crianças vacinadas com BCG maiores de 5 anos os IGRAs podem ser preferidos à prova tuberculínica, enquanto que nas não vacinadas com BCG os IGRAs e a prova tuberculínica estariam igualmente indicados.

No Brasil, para se considerar uma criança infectada por TB, adotou-se o ponto de corte da prova tuberculínica ≥ 5 mm em crianças vacinadas há mais de 2 anos ou imunossuprimidas; em crianças vacinadas com BCG há menos de 2 anos, o ponto de corte é ≥ 10 mm. Estes pontos de corte foram arbitrados dessa forma, pois durante os dois anos após a aplicação da vacina BCG a reação a prova tuberculínica vai gradualmente declinando.

IGRAs e prova tuberculínica não permitem isoladamente o diagnóstico da TB doença, seu papel é indicar a TB infecção. Ambos os testes têm sensibilidade similar para detectar infecção por *M. tuberculosis*. Mais estudos são necessários em crianças menores, pois o teste ainda produz resultados indeterminados, que se justificam pela baixa capacidade de produzir imunoglobulinas em crianças na primeira infância. Nos pacientes infectados pelo HIV a sensibilidade dos IGRAs é baixa, à semelhança do que ocorre com a prova tuberculínica.

O custo dos IGRAs é bem mais elevado e também é tecnicamente mais complexo do que o da prova tuberculínica. Além disso, envolve coleta de sangue, o que é uma limitação no caso de crianças. Por outro lado, a prova tuberculínica requer duas visitas à unidade de saúde para se obter o resultado dentro de 48 a 72 h. A tendência das normas internacionais é de manter a prova tuberculínica como padrão para se identificar casos de TB infecção, em detrimento dos IGRAs, devido às vantagens da prova tuberculínica quanto ao custo, resultados mais confiáveis em crianças pequenas e a não necessidade de recursos de laboratório.

Na Tabela 1 estão relacionadas as principais diferenças entre os IGRAs e o PPD.

Tabela 1. Comparação entre o teste tuberculínico e a dosagem de interferon gama (IGRA)

Característica	Prova Tuberculínica (PT)	IGRA
Antígeno usado	Vários, PPD	3 (QTF) e 2 (T-SPOT)
Amostra	Injeção intra-dérmica	Sangue
Número de visitas do paciente	2	1
Diferenciação entre ILTB e TB doença	Não	Não
Reação cruzada com o BCG	Sim	Não
Reação cruzada com MNT	Sim	Apenas algumas espécies ^a
Diferentes valores positivos de acordo com o risco	Sim (5-10-15)	No
Risco de "boosting"	Sim	No
Sujeito a "boosting" devido a PT prévia	Sim	Possível
Positividade ao longo do tempo (com ou sem tratamento)	Sim	Desconhecido
Dificuldade na reprodutibilidade do teste	Sim	Sim
Custo	Baixo	Alto
Local necessário para pessoal treinado	Unidades de Saúde	Laboratório
Especificidade estimada em crianças não vacinadas com BCG	95% a 100%	90% a 95%
Especificidade estimada em crianças vacinadas com BCG	49% a 65%	89% a 100%
Sensibilidade estimada (TB doença confirmada)	75% a 85%	80% a 85%
Sensibilidade estimada (TB doença clínica)	50% a 70%	60% a 80%

^a *M. Marinum*, *M. kansasii*, *M. szulgai*, and *M. flavescens*. IGRAs = *Interferon Gamma Release Assay* (ensaio de detecção de interferon gama) 1. Fonte: Pai et al, (mod). Nat. Rev. Dis. Primers 2016; 2: 16^o 76.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico. Secretaria de Vigilância em Saúde. Perspectivas brasileiras para o fim da tuberculose como problema de saúde pública. Brasília: Ministério da Saúde; 2016.
2. VOLZ Ana. Childhood TB case notification and treatment outcomes. Curso pré-congresso. In: Solanep. 2016 ----(dados não publicados).
3. Brasil. Ministério da Saúde. Boletim Brasileiro de Avaliação de Tecnologia em Saúde. XPERT® MTB/RIF no Diagnóstico da Tuberculose e Pulmonar. Brasília: Ministério da Saúde; 2011.
4. Sant'Anna CC, Orfalais CT, March Mde F, Conde MB. Evaluation of a proposed diagnostic scoring system for pulmonary tuberculosis in Brazilian children. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2006;10(4):463-5.
5. Pedrozo C, Sant'Anna C, de Fátima March M, Lucena S. Clinical scoring system for paediatric tuberculosis in HIV-infected and non-infected children in Rio de Janeiro. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2009;13(3):413-5.
6. World Health Organization - WHO. Guidance for National Tuberculosis Programmes on the Management of Tuberculosis in Children. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 2014. [accessed 2017 jul 26]. Available from: http://who.int/tb/publications/childtb_guidelines/en/
7. Sant'Anna CC, Schmidt CM, March MFBB, Pereira SM, Barreto ML. Tuberculose em adolescentes em duas capitais brasileiras. *Cad Saúde Pública* 2013;29(1):111-6.
8. Nicol MP, Whitelaw A, Wendy S. Using Xpert MTB/RIF. *Curr Respir Med Rev.* 2013;187-92. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/1573398X113099990015>
9. Brasil. Ministério da Saúde. Teste rápido molecular para tuberculose (TRM-TB). Procedimento operacional padrão. Brasília: Ministério da Saúde; 2015.
10. World Health Organization - WHO. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. Policy Update. Geneva: World Health Organization; 2011. [accessed 2016 Dec 22]. Available from: http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501545_eng.pdf
11. Nicol MP, Workman L, Isaacs W, Munro J, Black F, Eley B, et al. Accuracy of the Xpert MTB/RIF test for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children admitted to hospital in Cape Town, South Africa: a descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 2011;11(11):819-24. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70167-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70167-0)
12. Steingart KR, Sohn H, Schiller I, Kloda LA, Boehme CC, Pai M, et al. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;31(1):CD009593.
13. Bates M, O'Grady J, Maeurer M, Tembo J, Chilukutu L, Chabala C, et al. Assessment of the Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of tuberculosis with gastric lavage aspirates in children in sub-Saharan Africa: a prospective descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 2013;13(1):36-42. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70245-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70245-1)
14. Togun TO, Egere U, Sillah AK, Ayorinde A, Mendy F, Tientcheu L, et al. Contribution of Xpert® MTB/RIF to the diagnosis of pulmonary tuberculosis among TB-exposed children in The Gambia. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2015;19(9):1091-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.5588/ijtld.15.0228>
15. Zar HJ, Workman L, Isaacs W, Munro J, Black F, Eley B, et al. Rapid molecular diagnosis of pulmonary tuberculosis in children using nasopharyngeal specimens. *Clin Infect Dis.* 2012;55(8):1088-95.
16. Detjen AK, DiNardo AR, Leyden J, Steingart KR, Menzies D, Schiller I, et al. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Respir Med.* 2015;3(6):451-61.
17. Raizada N, Sachdeva KS, Nair SA, Kulsange S, Gupta RS, Thakur R, et al. Enhancing TB case detection: experience in offering upfront Xpert MTB/RIF testing to pediatric presumptive TB and DR TB cases for early rapid diagnosis of drug sensitive and drug resistant TB. *PLoS One.* 2014;9(8):e105346.