

Maria Aparecida Gadiani Ferrarini

**TAXA DE INFECÇÃO TUBERCULOSA
EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM CONTATO
DOMICILIAR DE ADULTOS COM TUBERCULOSE PULMONAR
ATIVA SEGUNDO A PROVA TUBERCULÍNICA E DOIS
ENSAIOS DE LIBERAÇÃO DE INTERFERON-GAMA**

Tese apresentada à Universidade
Federal de São Paulo - Escola Paulista
de Medicina, para obtenção do Título
de Doutor em Ciências.

São Paulo

2014

Maria Aparecida Gadiani Ferrarini

**TAXA DE INFECÇÃO TUBERCULOSA
EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM CONTATO
DOMICILIAR DE ADULTOS COM TUBERCULOSE PULMONAR
ATIVA SEGUNDO A PROVA TUBERCULÍNICA E DOIS
ENSAIOS DE LIBERAÇÃO DE INTERFERON-GAMA**

Tese apresentada à Universidade
Federal de São Paulo - Escola Paulista
de Medicina, para obtenção do Título
de Doutor em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Isabel de Moraes Pinto
Co-orientadora: Profa. Dra. Lily Yin Weckx

São Paulo

2014

Ferrarini, Maria Aparecida Gadiani

Taxa de infecção tuberculosa em crianças e adolescentes com contato domiciliar de adultos com tuberculose pulmonar ativa segundo a prova tuberculínica e dois ensaios de liberação de interferon-gama/ Ferrarini, Maria Aparecida Gadiani - São Paulo, 2014.

xii, 82 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-graduação em Pediatria.

Título em inglês: Rate of tuberculosis infection in children and adolescents with household contact of adults with active pulmonary tuberculosis as assessed by tuberculin skin test and interferon-gamma release assays.

1. Tuberculose Latente. 2. Teste Tuberculínico. 3. Interferon-gama. 4. Tuberculose.

Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina
Departamento de Pediatria

Chefe do Departamento: Prof.Dr. Mauro Batista de Moraes

Coordenadora do Curso de Pós-graduação: Profa. Dra. Olga Maria Silvério Amâncio

Chefe da Disciplina de Infectologia Pediátrica: Profa. Dra. Maria Isabel de Moraes Pinto

Maria Aparecida Gadiani Ferrarini

**TAXA DE INFECÇÃO TUBERCULOSA
EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM CONTATO
DOMICILIAR DE ADULTOS COM TUBERCULOSE PULMONAR
ATIVA SEGUNDO A PROVA TUBERCULÍNICA E DOIS
ENSAIOS DE LIBERAÇÃO DE INTERFERON-GAMA**

Presidente da banca:

Profa. Dra. Maria Isabel de Moraes Pinto

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Clemax Couto Sant'Anna

Prof. Dr. Eitan Naaman Berezin

Dra. Vera Maria Neder Galesi

Prof. Dr. Celso Francisco Hernandez Granato

Suplentes

Profa. Dra. Rosa Ressegue Ferreira da Silva

Prof. Dr. Saulo Duarte Passos

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese à minha família, com carinho

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Maria Isabel de Moraes Pinto, por sua dedicação, competência, paciência e também pela amizade, respeito e confiança em mim depositada.

À minha coorientadora Profa. Dra. Lily Yin Weckx, pela atenção, estímulo e apoio em todas as ocasiões.

Ao Prof. Antônio Vladir Iazzetti, pelos ensinamentos recebidos desde a minha vida acadêmica, pela rica convivência de anos, pelo estímulo e confiança no meu trabalho.

À Profa. Dra. Sandra Oliveira Campos, por ter sido uma importante referência na minha formação pediátrica e pela amizade e apoio recebido em várias circunstâncias da minha vida.

À Profa. Dra. Regina Célia de Menezes Succi, pelo apoio e estímulo no desenvolvimento do trabalho.

Ao Prof. Dr. Katsumi Osiro, por ter tornado o estudo possível ao permitir a busca dos casos no Centro de Saúde I Dr. Lívio Amato, pelo grande apoio, pela convivência de anos, sempre demonstrando respeito pelo meu trabalho.

A todos que foram meus professores na Escola Paulista de Medicina, muitos dos quais não se encontram mais presentes, agradeço por terem sido modelos para minha formação.

Aos colegas da Disciplina: Profa. Dra. Daisy Machado, Dra. Suênia Beltrão, Dra. Fabiana Bononi, Dra. Aída Gouvea, Dra. Kelly Cunegundes, Dra. Thaís Nogueira, Dr. Gustavo Johanson, Dr. Manuel Lafer, Dra. Alessandra Souza, Dra. Célia Miyazaki, Dra. Maria Isabel Dinelli, Dr. Marcelo Abramczyk, e aos demais que participam de forma voluntária na Disciplina agradeço o estímulo e apoio.

À equipe do Ambulatório de Infectologia, Dra. Ana Isabel Monteiro, Dr. Pedro F. Puccini, Dra. Helmar Verlangieri, Solange da Rocha, agradeço a cooperação e a paciência.

À Edna Silva Oliveira de Castro, um agradecimento especial pela prontidão em colaborar sempre, por me ouvir em momentos difíceis e pelas palavras de apoio recebidas.

A todos os funcionários do CRIE, em especial, Maria Rosângela Gerardi, Paulina Shibazaki, Adriana Duarte, Sônia Queiroz, Ana Maria Silva, Marluce, Débora Oliveira, Kelly Gonçalves, que colaboraram no acolhimento dos pacientes e na realização do teste tuberculínico.

A todos os funcionários da Disciplina de Infectologia Pediátrica, agradeço o apoio, em especial à Ana Maria Rufino e Maria Rosa de Jesus que estiveram na retaguarda das coletas de sangue.

À turma do Laboratório de Infectologia Pediátrica, em especial a Fernanda Spina, que participou ativamente do estudo com dedicação e competência, Maristela Miyamoto, Erika Ono, Fernanda Gouveia, Patrícia Viana pelo apoio e colaboração.

Ao grupo da Vigilância Epidemiológica do Hospital São Paulo, Dra. Sueli M. Yashiro, Vanda N.S. Sato, Nívia Aparecida Pissaia Sanches, Valdete M Ramos agradeço a colaboração e a disposição em ajudar em todas as solicitações.

À equipe da Vigilância Epidemiológica do Centro de Saúde I Dr. Lívio Amato, Dra Maria Amália Lamana Batochio, Dra Edna Mamed Amed e aos colegas: Profa Dra Sandra Ribeiro, Dra Maria Daniela Bergamasco, Dra Sumire Sakabe, que sempre me receberam com atenção e colaboração.

Às amigas do SAE Ceci, em especial, Regina, Zelma, Cristiane, Juliana, Neusa, Sônia e Ana, e também aos demais funcionários pela torcida e apoio.

À Fábria Lopes pela atenção, simpatia e cooperação no encaminhamento e organização dos laudos dos exames radiológicos.

A Thais Cocarelli e Ângela T. Paes, pela assistência na análise estatística.

A Eliana Galano e Maurice Marin, que gentilmente realizaram a formatação do trabalho.

Aos meus pais, Geraldo (in memorian) e Neide, por terem me ensinado com transparência e simplicidade os verdadeiros valores de vida.

Aos meus irmãos Elisabete, Celso e Geraldo, pelo apoio e carinho que permeia entre nós.

Ao Reginaldo, pela paciência, compreensão, companheirismo e respeito com os meus projetos.

Ao Pedro, Otávio e José Mário, pelo carinho, paciência e cooperação quando necessito e pela força em todos os momentos da minha vida.

À Heloísa, pelo maior presente que receberei em breve: a Olívia, e à Terena e Beatriz pelas palavras de estímulo.

Aos meus amigos de longa data, Flávia, Ricardo, Josefina, Edson, Nanci, Milton, Anelise, Petty e tios Nelson, Doroti, Eder e Nilcen, que sempre me estimularam para realização deste estudo.

À Maria Nazaré, pelos cuidados com a minha família e organização da minha casa e à Sônia Oliveira, por todo empenho em organizar os meus horários.

Aos meus pequenos pacientes e seus familiares, pela confiança, pela adesão ao trabalho, pela oportunidade de acompanhá-los e aprender um pouco mais com suas dificuldades e superações.

A todas as pessoas não mencionadas, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Apoio Financeiro

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento do projeto nº 2009/07603-7.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	V
AGRADECIMENTOS	V
APOIO FINANCEIRO.....	IX
SUMÁRIO.....	X
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XI
<i>1 REVISÃO DA LITERATURA</i>	<i>1</i>
1.1 EPIDEMIOLOGIA.....	2
1.2 TRANSMISSÃO.....	4
1.3 IMUNOPATOGÊNESE.....	8
1.4 DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO TUBERCULOSA LATENTE	13
1.4.1 PROVA TUBERCULÍNICA	13
1.4.2 ENSAIOS DE LIBERAÇÃO DE INTERFERON-GAMA.....	14
1.5 JUSTIFICATIVA.....	28
1.6 HIPÓTESE	28
2 OBJETIVOS	29
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
4 ARTIGO ORIGINAL	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
ABSTRACT	41
RESUMO	42
INTRODUCTION	43
PATIENTS AND METHODS.....	45
STATISTICAL ANALYSIS	47
RESULTS	48
DISCUSSION.....	50
CONCLUSION	54
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
6 ANEXOS.....	71
ANEXO 1.....	72
PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL	72
ANEXO 2.....	74
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	74
ANEXO 3.....	78
FICHA DO CASO ÍNDICE.....	78
ANEXO 4.....	81
FICHA DOS CONTATOS.....	81

Lista de Abreviaturas

AAP	Academia Americana de Pediatria
ABEP	Associação Brasileira de Estudos Populacionais
BAL	Bronchoalveolar lavage
BCG	Bacillus Calmette-Guérin
CDC	Centro de Controle de Doenças de Atlanta
CFP 10	Culture Filtrate Protein 10
DOTS	Tratamento diretamente observado
ECDC	Centro Europeu de Controle de Doenças
ESAT-6	Early Secreted Antigenic Target 6
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IFN-gama	Interferon-gama
IFN- γ	Interferon-gamma
IGRAs	Interferon gamma release assays
IL	Interleucinas
LTBI	Latent tuberculosis infection
MDR-TB	Tuberculose multiresistente
MHC	Complexo de histocompatibilidade principal
NTM	Nontuberculous mycobacteria
OMS	Organização Mundial de Saúde
PPD	Derivado proteico purificado
QFT-IT	QuantiFERON TB Gold in-Tube®
TB	Tuberculose

TCR	Receptor de células T
TLR	Toll- like receptor
TNF-alfa	Fator de necrose tumoral alfa
T-SPOT. <i>TB</i>	Ensaio de liberação de interferon gama pela técnica ELISpot
TST	Tuberculin skin test
WHO	World Health Organization

1.1 Epidemiologia

A tuberculose é um grave problema de Saúde Pública, intimamente ligada à pobreza, às más condições de moradia e alimentação, associada frequentemente a problemas sociais como alcoolismo e uso de drogas. O estigma causado pela doença permanece até os dias atuais e de certa forma influencia a dificuldade de adesão ao tratamento do doente e de seus contatos (San Pedro, Oliveira, 2013).

Em 1993 a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou a tuberculose como uma emergência mundial devido ao recrudescimento da doença principalmente nos países desenvolvidos e estimou que um terço da população mundial estivesse infectada pelo *M. tuberculosis* e em risco de desenvolver a doença (Ministério da Saúde, 2011).

Nesse sentido, o surgimento da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e dos focos de tuberculose multirresistente no mundo em muito contribuíram para agravar ainda mais a situação da doença (Zar, Udwadia, 2013).

A relevância da sua magnitude pode ser evidenciada pela estimativa realizada em 2012 pela OMS que refere 8,6 milhões de casos novos de tuberculose com 1,3 milhões de mortes no mundo. Do total de casos, 13% foram associados à infecção pelo HIV, com 320 mil mortes. Além disso, a estimativa de tuberculose multirresistente (MDR-TB) no mundo foi de 540 mil casos, com 170 mil mortes. (World Health Organization, 2013).

Por muitos anos, a prevenção, o diagnóstico e o tratamento da tuberculose na criança foram negligenciados. Por ser pouco importante na cadeia de transmissão, devido à natureza paucibacilar da doença, a maior atenção foi dada a detecção e tratamento dos casos contagiosos que, em sua maioria, ocorrem nos adultos. A estratégia “Stop TB”, lançada pela OMS em 2006, incluiu a detecção e tratamento de

casos de tuberculose em grupos vulneráveis ou de alto risco, tais como crianças (World Health Organization, 2012).

A estimativa da carga global da tuberculose na criança, no ano de 2012 foi de 530 mil novos casos e 74 mil mortes em crianças não infectadas pelo HIV, representando cerca de 6% da carga global da tuberculose (8,6 milhões) (World Health Organization, 2013). A estimativa de áreas endêmicas sugere que a tuberculose na criança ocorra numa proporção mais alta, de 10% a 15% (Marais et al., 2013).

Nos últimos anos, a incidência de tuberculose no mundo tem diminuído, apresentando uma taxa de declínio de 2,2% entre 2010 e 2011. A taxa de mortalidade também teve queda de 41% desde 1990 e o mundo está caminhando para atingir os objetivos do plano Stop TB da OMS, que seriam reduzir a prevalência e as mortes em 50% até 2015 em relação aos níveis de 1990 e eliminar a tuberculose como problema de Saúde Pública até 2050. Esta eliminação é definida como uma redução da incidência global de casos de tuberculose ativa para menos de 1 caso/milhão da população/ano (World Health Organization, 2012).

Apesar de o Brasil estar incluído entre os 22 países responsáveis por 80% dos casos de tuberculose no mundo, nos últimos 15 anos, observou-se também em nosso meio uma queda de 26% na incidência e de 32% na mortalidade por tuberculose (Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, 2009). Esta redução ocorreu principalmente a partir da implementação da estratégia do tratamento diretamente observado (DOTS) em 1999.

Anualmente são notificados no Brasil aproximadamente 85 mil casos de tuberculose. Destes, 70.047 foram casos novos em 2012, o que equivale ao coeficiente de incidência de 36,1/100.000 habitantes (Ministério da Saúde, 2013a).

A OMS divulgou em 2012 que o Brasil já alcançou a meta de reduzir pela metade a taxa de mortalidade por tuberculose quando comparada a 1990. Em 2010, o número de óbitos foi de 4.659 e o coeficiente de mortalidade, de 2,4 óbitos/100.000 habitantes (Ministério da Saúde, 2013a).

A taxa de incidência de tuberculose no Brasil varia por regiões, e nos últimos anos é de aproximadamente 30 casos/100mil habitantes nas regiões Sul e Centro-Oeste e 50 casos/100 mil habitantes nas regiões Norte, Nordeste e Sudeste (Sociedade de Pneumologia e Tisiologia, 2009). Segundo a nova classificação da OMS para a epidemia de tuberculose, o Brasil não possui mais uma epidemia generalizada, mas uma epidemia concentrada em algumas populações, tais como as pessoas que vivem em situação de rua, os privados de liberdade, a população indígena e aqueles que vivem com o HIV (Ministério da Saúde, 2013a).

As metas internacionais estabelecidas pela OMS e pactuadas pelo governo brasileiro são de detectar 70% dos casos de tuberculose estimados e curar 85% destes. No Brasil a proporção de cura estimada dos casos novos bacilíferos foi de 71,6 % em 2011 (Ministério da Saúde, 2013a).

Em relação à resistência aos fármacos para tuberculose, houve no nosso país, um aumento da resistência primária à isoniazida de 4,4% para 6,0% e da resistência primária à isoniazida associada à rifampicina de 1,1% para 1,4% do I para o II Inquérito Nacional sobre Resistência aos Fármacos anti-Tuberculose realizados nos períodos de 1995-1997 e 2007-2008, respectivamente (Ministério da Saúde, 2008).

1.2 Transmissão

A infecção tuberculosa ocorre através do contato íntimo e prolongado com o doente com tuberculose pulmonar bacilífera, que elimina, através da tosse e espirros,

grande número de partículas infectantes que se tornam aerossóis e são inaladas pelos contatos. O risco de um indivíduo se tornar infectado depende da carga e da virulência do bacilo, da duração e proximidade do contato e da suscetibilidade do indivíduo (Fox et al., 2013).

A investigação de contatos é considerada uma estratégia obrigatória nos programas de controle da tuberculose. Esta avaliação é feita de forma rotineira nos países de alta renda com baixa incidência da doença visando à detecção precoce dos casos e da infecção latente (Davies, 2002).

Os indivíduos portadores da forma latente da tuberculose representam um grande obstáculo ao controle e à eliminação da doença, pois funcionam como verdadeiros reservatórios do *M. tuberculosis*, podendo progredir para doença ou sofrer reativação no futuro (Ministério da Saúde, 2011).

Metanálise recente avaliou a prevalência da tuberculose doença, da infecção latente e a subsequente incidência anual de tuberculose até cinco anos após o contato, domiciliar ou não, com tuberculose, em locais de alta, média e baixa renda em vários grupos de risco (Fox et al, 2013).

Em 95 estudos realizados em locais de baixa e média renda (África do Sul, Nigéria, Kênia, Paquistão, Turquia, Malawi, Gâmbia, Irã, Uganda, Senegal, Zimbábue, Laos, Tailândia, Índia, Filipinas, Nepal, China, Colômbia, República Democrática do Congo, Brasil), a prevalência de tuberculose ativa entre os contatos foi de 3,1%, e a de infecção latente, de 51,5%. Já em 108 estudos realizados em locais de alta renda, as prevalências de tuberculose ativa e de infecção latente entre os contatos foram de 1,4% e de 28,1%, respectivamente (Fox et al., 2013).

Há um crescente interesse na melhora da investigação de contatos em áreas com recursos limitados. No Brasil, a porcentagem de contatos examinados entre os casos

novos de tuberculose bacilífera em 2012 foi de 51,6%; no Estado de São Paulo, ela foi de 69,2% (Ministério da Saúde, 2013b).

A pesquisa da infecção tuberculosa em crianças em contato com adultos bacilíferos é uma das ações de controle da tuberculose de grande relevância e simples de ser efetuada. A OMS recomenda que a investigação de contato seja feita em duas populações de risco: crianças menores de cinco anos e pessoas vivendo com HIV ou de alto risco para infecção pelo HIV (World Health Organization, 2007b).

Crianças expostas a adultos com tuberculose bacilífera apresentam alto risco de infecção quando avaliadas através da prova tuberculínica, com taxas que variam de 30% a 50% em países com alta endemicidade da doença. (Almeida et al, 2001; Maciel et al., 2009). Porcentagens um pouco maiores são observadas quando a prova tuberculínica é associada a outros testes mais recentemente utilizados para o diagnóstico de tuberculose (Nakaoka et al., 2006; Okada et al., 2008).

Estudo brasileiro recente comparou os aspectos clínicos, radiológicos e laboratoriais de uma coorte de crianças menores de 15 anos contatos domiciliares de tuberculose pulmonar com cultura positiva. O grupo denominado exposto era contato de casos com baciloscopia e cultura positiva e o grupo não exposto era contato de casos com baciloscopia negativa e cultura positiva. A prova tuberculínica foi positiva em 38% dos casos no grupo exposto e em 18% da amostra do grupo não exposto, demonstrando que crianças em contato com adultos bacilíferos possuíam um risco 2,8 vezes maior de serem infectadas do que as que eram contatos de adultos com baciloscopia negativa. Neste estudo, a prova tuberculínica foi definida como reatora quando a enduração era $\geq 10\text{mm}$ nos vacinados há mais de 2 anos e $\geq 15\text{mm}$, nos vacinados há menos de 2 anos (Maciel et al., 2009).

Além da alta taxa de infecção na criança, a idade é um fator de risco para progressão da doença e os sintomas de adoecimento na grande maioria das vezes aparecem dentro do primeiro ano após a infecção primária (Marais et al., 2004, Marais et al., 2006).

De fato, no estudo acima relatado, o adoecimento ocorreu em 5 de 99 crianças do grupo exposto (5%) (todas com forma pulmonar) e em nenhuma das 56 do grupo não exposto. Vale ressaltar que as crianças que adoeceram o fizeram nos primeiros 4 meses após a identificação do caso índice. Além disso, quanto maior a carga bacilar do caso índice, maior é a chance de seus contatos virem a se infectar. Com a investigação dos contatos, foi possível o diagnóstico de tuberculose pulmonar confirmada microbiologicamente nas 5 de 155 crianças (3,2% da amostra total) (Maciel et al., 2009).

Na história natural da doença, sabe-se que a infecção primária antes dos dois anos de idade frequentemente progride para doença dentro dos primeiros doze meses, atingindo 50% dos menores de 1 ano (Marais et al., 2004). Este risco diminui com a idade, chegando ao nadir na faixa etária dos 5 a 10 anos. Durante a adolescência, entre 15 e 19 anos, volta a subir, com um segundo pico de ocorrência dos 20 aos 30 anos (Donald et al., 2010). Além da idade, fatores associados à alteração de imunidade podem interferir na evolução para doença. Assim, o risco de adoecimento, que é de 10% durante toda a vida na população não infectada pelo HIV, passa para o risco de adoecimento de mais de 10% ao ano nos indivíduos infectados pelo HIV (Lawn, Wood, Wilkinson, 2011). Outro aspecto importante é a diversidade de manifestações nestes indivíduos, que vai desde formas subclínicas de doença ativa, que se tornam aparentes com a instituição da terapia antirretroviral e a melhora da situação imunológica, até

uma maior frequência de formas extrapulmonares e disseminadas (Lawn, Wood, Wilkinson, 2011).

1.3 Imunopatogênese

A interação entre o *M. tuberculosis* e o hospedeiro é complexa e o entendimento da patogênese e da resposta imune durante a infecção têm aumentado nos últimos anos (Teixeira et al. 2007; Dheda et al., 2010; Ottenhoff, 2011; Walzl et al., 2011).

Nem todos os indivíduos expostos ao *M. tuberculosis* se tornam infectados, sugerindo fortemente que a eliminação da bactéria pela imunidade inata possa ocorrer. Dez a 20% dos indivíduos expostos permanecem não reatores na prova tuberculínica e não desenvolvem a doença a despeito de alta intensidade de exposição e provável infecção (Dheda et al., 2010).

Quando ocorre a infecção, na maioria das vezes o patógeno é contido através de mecanismos da imunidade adaptativa, que envolvem diferentes populações de células T. Somente cerca de 10% dos infectados irão progredir para doença ativa durante a vida.

O *M. tuberculosis* tem mecanismos de sobrevivência no organismo humano, podendo permanecer clinicamente no estado inativo. Entretanto, esta situação só é possível devido a uma constante atuação do sistema imune, que previne a replicação ativa, mas falha em erradicar a bactéria. (Walzl et al., 2011). Assim, qualquer diminuição na imunidade do hospedeiro pode resultar em doença clínica. Os mecanismos que determinam a evolução após a exposição ao *M. tuberculosis* permanecem não esclarecidos.

A visão tradicional da infecção pelo *M. tuberculosis* como tendo um aspecto de dois pólos distintos como “forma latente e doença ativa” tem sido substituída por um

modelo de um espectro contínuo e dinâmico que vai da forma latente à de doença ativa e disseminada, passando por diversas outras situações clínicas na dependência da interação entre o hospedeiro e patógeno (Lawn, Wood, Wilkinson, 2011).

Nas fases iniciais da infecção, os componentes do bacilo interagem com vários receptores na superfície das células apresentadoras de antígenos do trato respiratório, incluindo macrófagos e células dendríticas, que acabam por fagocitá-lo. Uma vez dentro do fagossomo, a ação das enzimas lisossomais leva à morte de muitos bacilos. O *M. tuberculosis* tem a capacidade de atuar no fagossomo e pode com isso evadir-se para o citoplasma da célula. A ativação macrofágica é fundamental para que haja a morte ou interrupção da replicação da micobactéria. Nesse processo de ativação atua o eixo interleucina-12 (IL-12)-interferon-gama (IFN-gama), que permite a interação entre as células NK/células T com os macrófagos/células dendríticas. Além disso, a produção de TNF-alfa é fundamental para a contenção do bacilo, conforme descrito mais adiante (Walzl et al., 2011).

A micobactéria pode também evadir-se do sistema imune através de outros mecanismos, tais como inibição da autofagia, da apoptose do fagócito, do receptor de IFN-gama, do processamento e da apresentação de seus epítomos pelas células apresentadora de antígenos, bem como remoção de reativos de oxigênio e intermediários de nitrogênio (Ottenhof, 2012).

Vale lembrar que, na interação da micobactéria com os vários receptores dos macrófagos, a ativação do Toll-like receptor (TLR) determina a conversão da pró-vitamina D em sua forma ativa 1,25-diidroxi-vitamina D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) e leva à indução de catelicidina e β -defensinas, o que contribui para a destruição intracelular da micobactéria (Dheda, K et al., 2010). Sugere-se também que a ação da vitamina D

possa depender da presença de IFN-gama, e assim determinar a resposta imune adaptativa (Battersby, Kampmann, Burl, 2012).

Após a fagocitose, os macrófagos e células dendríticas migram até os linfonodos regionais e ali ocorre a apresentação de antígenos dos bacilos às células T naive no contexto de moléculas do complexo de histocompatibilidade principal (MHC).

Esta migração para o linfonodo pode demorar até duas ou três semanas, o que permite ao *M. tuberculosis* se multiplicar livremente antes que a imunidade adaptativa seja estimulada para controlar a infecção (Ottenhof, 2012).

A apresentação de antígenos específicos do *M. tuberculosis* via MHC classe II às células T CD4+ aciona células que expressam receptor de células T (TCR) específico ao antígeno do complexo MHC-TB e leva à diferenciação em células CD4+ T *helper* efetoras e células de memória. As células diferenciadas em T efetoras migram ao local de infecção, onde acionam uma resposta Th1, com a produção de IFN-gama e TNF-alfa. As células T de memória permanecem no linfonodo, mantendo memória imunológica da infecção tuberculosa por longo tempo. A habilidade das células T CD4+ em produzir IFN-gama e assim, ativar os fagócitos e permitir a contenção do patógeno intracelular, é essencial para o controle da infecção.

Simultaneamente, ocorre a apresentação de antígeno via MHC classe I aos linfócitos T CD8+, levando à diferenciação de células T específicas para o *M. tuberculosis*. Estas células T CD8+ podem modular a atividade fagocítica, assim como produzir granulinas, que podem ser diretamente citotóxicas para a micobactéria.

Também ocorre ativação de outras células T CD4+ como as Th17, que são pró-inflamatórias e produzem IL-17F, IL-17A, TNF, IL-22 e, em alguns casos, IFN-gama. Estas células primariamente apresentam atividade imunológica contra bactérias extracelulares e fungos, particularmente em superfícies mucosas, e recentemente

sugeriu-se que que contribuam para a defesa contra o *M. tuberculosis*, principalmente na fase precoce da imunidade adaptativa (Ottenhof, 2012).

IL-17 também é produzida por células T gama-delta, uma população de células com propriedades tanto da imunidade inata como da adaptativa e que agem na fase precoce da infecção (Ottenhof, 2012).

Além desses, outros tipos de células que participam na defesa contra a infecção tuberculosa são as células NK, células B e neutrófilos.

Ao mesmo tempo em que ocorre a fagocitose de micobactérias, novos macrófagos vão sendo recrutados ao local de infecção durante a resposta inata, formando um infiltrado celular que se transforma em granuloma primário. Ao contrário do que se pensava, os granulomas são dinâmicos, sendo possível que as células do hospedeiro entrem e saiam rapidamente. Quando a resposta adaptativa começa, as células T específicas também se infiltram no granuloma, levando à formação de grandes e organizadas estruturas em que o bacilo e os macrófagos ficam em regiões mais centrais e as células T, mais na sua periferia (Ehlers, Schaible, 2013; Ottenhof, 2012).

Essa resposta do hospedeiro é considerada de proteção, pois ela localiza e mantém a infecção *in situ*. O TNF-alfa tem um importante papel na formação e também na manutenção do granuloma organizado. Se o controle local da inflamação não é balanceado, desenvolve-se a necrose caseosa, o que facilita a multiplicação extracelular do bacilo. Quando granulomas com necrose se liquefazem e se inicia dano na parede da via aérea, grande número de bacilos pode ser eliminado neste local e ser transmitidos pelos aerossóis.

Embora a resposta imune ao *M. tuberculosis* com formação de granulomas seja um instrumento de contenção do bacilo, ela também beneficia o patógeno, permitindo a sua sobrevivência, propagação e transmissão (Ehlers, Schaible, 2013; Ottenhof, 2012).

O *M. tuberculosis* também induz a ativação e expansão de células T regulatórias (Treg) que exercem função antiinflamatória através de secreção de citocinas como IL-10, TGF-beta e CCL4, o que inibe o início da imunidade adaptativa ao *M. tuberculosis*. Por outro lado, as células Treg têm um importante papel na manutenção da homeostase imunológica por prevenirem a inflamação excessiva e autoimunidade (Ottenhoff, 2012).

Lactentes infectados têm a probabilidade de 5 a 10 vezes maior de desenvolvimento da doença ativa que o adulto e têm altas taxas de doença disseminada, incluindo tuberculose miliar e meníngea. Isto porque seu sistema imune tem dificuldade em desenvolver rapidamente uma resposta imune adaptativa à tuberculose. Apresentam menor número de macrófagos, neutrófilos e células dendríticas, com reduzida capacidade de produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF, IL-1 e IL-12 e aumentada capacidade de produção da citocina antiinflamatória IL-10. Também apresentam déficit quimiotático, o que prejudica seu recrutamento de células ao sítio de infecção, o que retarda a chegada de células apresentadoras de antígenos ao linfonodo. Mesmo após a ativação das células T, a expansão da célula T efetora é lenta devido à propensão do lactente de induzir uma resposta Treg. Além disso, as células T dos lactentes têm diminuída produção de citocinas Th1, incluindo o IFN-gama (Vanden Driessche et al., 2013).

Segundo os autores deste artigo de revisão, a tuberculose é uma doença diferente em lactentes e em crianças maiores e adultos. Nestes últimos, a doença é causada por uma inapropriada e excessiva resposta inflamatória à infecção, enquanto

que na tuberculose do lactente a doença ocorre devido a uma resposta inflamatória inadequada (Vanden Driessche et al., 2013).

1.4 Diagnóstico da infecção tuberculosa latente

A importância do diagnóstico da infecção assintomática baseia-se na possibilidade do tratamento da tuberculose latente (Amanatidou et al., 2011; Smieja et al. 2000), tratamento esse que confere proteção contra o adoecimento em 60% a 90% dos casos nos diversos grupos de risco (Ministério da Saúde, 2010). É bem aceito que para diminuir a incidência de tuberculose ativa em locais de baixa incidência, os indivíduos com tuberculose latente têm que ser identificados e tratados (Lighter et al., 2009, Norbis et al., 2013).

O tratamento da tuberculose latente no Brasil está indicado, além de outras situações, (Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, 2009; Ministério da Saúde, 2010), para todos os adolescentes saudáveis menores de 15 anos, contatos recentes de tuberculose bacilífera, com prova tuberculínica $\geq 5\text{mm}$ para os vacinados com BCG há mais de 2 anos e $\geq 10\text{mm}$ para os vacinados com BCG há menos de 2 anos (Cailleaux-Cezar et al., 2009).

1.4.1 Prova tuberculínica

Por muito tempo o diagnóstico de tuberculose latente foi definido exclusivamente através da reatividade da prova tuberculínica em pessoas assintomáticas, isto é, sem evidência de doença ativa, expostas ao doente com tuberculose (Lalvani, Pareek, 2010). A utilidade da prova tuberculínica é que ele detecta a resposta cutânea da reação de hipersensibilidade tardia ao derivado proteico purificado (PPD), uma mistura heterogênea de mais de 200 proteínas do *M. tuberculosis*, que apresenta similaridade

com antígenos da BCG e de outras micobactérias do meio (Withworth et al., 2013). Na prova tuberculínica, as células T sensibilizadas por infecção prévia são recrutadas para a pele onde a tuberculina foi injetada e liberam citocinas. As citocinas identificadas na reação do teste tuberculínico são IL-4, IFN-gama, TNF-alfa, IL-10, IL-2, e fator estimulador de granulócitos (Lighter et al., 2009). O resultado é uma endureção da pele no local decorrente da vasodilatação, edema, depósito de fibrina e recrutamento de outras células inflamatórias para a área.

Entretanto, é bem conhecido que a prova tuberculínica apresenta limitações, tais como erros que possam ocorrer na administração do PPD e na interpretação dos resultados (Ministério da Saúde, 2011). Além disso, tem baixa especificidade, pois os antígenos do PPD apresentam reatividade cruzada com a vacina BCG e também com as micobactérias não tuberculosas do meio ambiente (Andersen et al., 2000). Assim, pode ocorrer tratamento de tuberculose latente em indivíduos que não são verdadeiramente infectados.

A prova tuberculínica também apresenta baixa sensibilidade nos indivíduos imunodeprimidos (infectados pelo HIV, em uso de altas doses de corticosteroides ou de outras drogas imunossupressoras), nos infectados recentemente e em crianças, principalmente as de baixa idade, que são justamente os grupos de alto risco para progressão da doença (Withworth et al., 2013). Há ainda a necessidade do retorno do paciente em 48 a 72 horas para a leitura do resultado e também o inconveniente dos sucessivos estímulos ao sistema imune em casos de dosagens frequentes.

1.4.2 Ensaios de liberação de interferon-gama

Um grande avanço no diagnóstico da tuberculose latente nos últimos anos foi o desenvolvimento de testes imunológicos de liberação de IFN-gama (IGRAs - Interferon

gamma release assays). Eles se baseiam no conceito que células T de memória de indivíduos previamente sensibilizadas pelos antígenos do *M. tuberculosis* liberam IFN-gama quando reestimuladas com antígenos específicos do *M. tuberculosis*.

Estes testes foram desenvolvidos na tentativa de substituir a prova tuberculínica, pois são feitos *ex vivo*, isto é, através da cultura em laboratório de células mononucleares do sangue periférico na presença de antígenos do *M. tuberculosis* (Lalvani et al., 2001; Lalvani, 2007).

Os antígenos utilizados são o “Early Secreted Antigenic Target 6” (ESAT-6) e o “Culture Filtrate Protein 10” (CFP-10). Estas duas proteínas, altamente antigênicas, são codificadas por genes da região de diferença 1 nas micobactérias patogênicas do complexo *M. tuberculosis*, como *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* (Andersen et al., 2000) e são secretadas em grande quantidade quando cultivadas *in vitro* ou quando infectam o hospedeiro. Tais moléculas parecem ter importância em certos estágios do crescimento da micobactéria e são necessárias à sua sobrevivência no meio intracelular (Teixeira, Abramo, Munk, 2007). Devido à ausência da região de diferença 1 e, portanto, destas proteínas na cepa vacinal do *M. bovis*, estes testes não apresentam resultado falso positivo em indivíduos vacinados com BCG (Andersen et al. 2000; Lalvani, 2007). Também há ausência desta região de diferença 1 na maioria das micobactérias não tuberculosas (exceto para *M. szulgai*, *M. kansasii* e *M. marinum*), de modo que a resposta não é confundida com uma resposta imune à vacinação anterior com BCG prévio e nem com uma resposta a micobactérias do meio. Isso garante grande especificidade ao teste (Andersen et al., 2000; Lalvani, 2007).

Além desta, outras vantagens apresentadas por esses testes são a possibilidade de realizá-los numa única visita, o desenvolvimento *in vitro*, que não promove um

segundo desafio para o sistema imune do indivíduo, e a possibilidade do fornecimento do resultado em 24 horas (Lalvani, 2007).

Dois testes são comercialmente disponíveis atualmente: o **T-SPOT.TB®** (Oxford Immunotec, Oxford, UK), que usa o ESAT-6 e o CFP-10 como antígenos e está disponibilizado na Europa desde 2004 e o **QuantiFERON-TB Gold®** (Cellestis, Carnegie, Austrália), disponível desde 2007, (QuantiFERON Gold modificado, denominado QuantiFERON TB Gold in-Tube®)(QFT-IT), que utiliza 3 antígenos: ESAT-6, CFP-10 e TB 7.7. Ambos foram submetidos à rigorosa validação clínica em estudos prospectivos em larga escala e foram aprovados por agências fiscalizadoras de vários países, entre eles os Estados Unidos (Oxford Immunotec, 2013).

Esses novos testes, da mesma forma que a prova tuberculínica, não distinguem a tuberculose infecção da tuberculose doença.

A comparação do desempenho diagnóstico desses testes laboratoriais e da prova tuberculínica é prejudicada pela falta de um teste de referência padrão ouro (“gold standard”) para tuberculose latente, o que torna impossível medir diretamente sua sensibilidade e especificidade (Lalvani, Pareek, 2010)

Para avaliação de sensibilidade são utilizados correlatos como o grau de exposição aos doentes com tuberculose bacilífera, e a evolução para tuberculose ativa após o diagnóstico de tuberculose latente. Para avaliar a especificidade, utilizam-se os marcadores como IGRA negativo em indivíduos saudáveis, vacinados com BCG, com baixo risco de tuberculose infecção devido à ausência de risco epidemiológico para exposição tuberculosa (Lalvani, Pareek, 2010; Pai, Zwerling, Menzies, 2008). Muitos estudos foram publicados sobre a acurácia, valor preditivo, custo efetividade, e indicações dos IGRAs após os testes se tornarem disponíveis comercialmente.

Revisões sistemáticas sugeriram que o desempenho dos IGRAs diferia em locais de alta e baixa prevalência de doença e em locais com alta incidência de infecção pelo HIV, com menor sensibilidade em locais com alta carga de doença (World Health Organization, 2011b). Em países de baixa prevalência os IGRAs são tão sensíveis quanto a prova tuberculínica e mais específico em indivíduos vacinados. Além disso, eles correlacionam-se melhor com o gradiente de exposição que o teste tuberculínico. Ao contrário, em locais de alta prevalência de tuberculose, a sensibilidade dos IGRAs (principalmente do QFT) é menor; a prova tuberculínica, apesar de menos específica nos vacinados, é mais sensível que o IGRA na tuberculose ativa e correlaciona-se melhor com a exposição (Dheda et al., 2009).

Metanálise (Pai et al., 2008) avaliou o desempenho dos IGRAs para o diagnóstico de tuberculose latente em estudos de países com alta carga e baixa carga de doença. Confirmou-se uma alta especificidade dos IGRAs ($\geq 93\%$), especialmente do QuantiFERON-TB Gold e QuantiFERON-TB Gold in-Tube, que não é alterada pela vacina BCG, enquanto que para a prova tuberculínica a especificidade foi baixa em vacinados e variável em não vacinados. Estes estudos para avaliar especificidade incluíram somente adultos e nenhum deles comparou a prova tuberculínica e IGRAs em população vacinada somente ao nascer, situação em que a especificidade da prova tuberculínica é mais alta.

A sensibilidade global do T-SPOT.TB (90%) foi maior que os dois ensaios de QuantiFERON (Gold 78% e Gold in-Tube 70%), mas esses dados têm que ser cuidadosamente interpretados, pois não foi feita comparação dos diversos testes realizados num mesmo grupo de indivíduos. A sensibilidade da prova tuberculínica foi mais difícil de interpretar devido à heterogeneidade dos dados, mas a sensibilidade

global estimada foi de 77%, sugerindo sensibilidade semelhante ao QuantiFERON e menor que a do ELISpot.

Os primeiros estudos avaliaram o desempenho dos IGRAs em diferentes cenários e a grande questão era se eles poderiam substituir a prova tuberculínica no diagnóstico de tuberculose latente (Okada et al., 2008; Hill et al., 2006; Diel et al., 2009).

Atualmente os estudos discutem o uso **combinado** da prova tuberculínica com os IGRAs para aumentar a sensibilidade diagnóstica da tuberculose na criança (Chiapini et al., 2012, Tsolia et al., 2010; Bamford et al., 2010; Adetifa et al., 2010; Yassin et al., 2012).

Adetifa et al. 2010, empregando a prova tuberculínica, T-SPOT.TB e QFT-IT em crianças contatos recentes de tuberculose bacilífera, verificaram que os três testes tiveram desempenho semelhante para diagnosticar a infecção latente e um benefício de 10% na sensibilidade quando o IGRA foi associado a prova tuberculínica, mas com uma perda na especificidade em torno de 10%.

Estudo empregando três testes consecutivos - prova tuberculínica, QFT e IP10- (interferon-gama indutor de proteína 10) detectou um número maior de crianças classificadas como infectadas e esse aumento foi associado com a carga bacilar do caso índice (Yassin et al., 2012). O uso dos IGRAs em substituição a prova tuberculínica ou como teste confirmatório deste em países de alta renda tem reduzido o número de pessoas consideradas para tratamento preventivo sem risco significativo de tuberculose ativa subsequente (Muñoz, Santin, 2013).

Entretanto, estes resultados não se aplicam a países de baixa renda com alta carga de tuberculose como vistos nos estudos em Gâmbia (Hill et al., 2008) e África do Sul (Mahomed et al., 2011), concordando com as recomendações da OMS que

desaconselha o uso de IGRAs para identificação de pessoas sob risco nesses locais (OMS Police Statment, 2011b).

Uma das questões que permanece nos dias atuais é o poder prognóstico dos IGRAs em relação a prova tuberculínica em predizer o desenvolvimento da tuberculose doença (Abubakar et al., 2013).

Sabe-se que no adulto imunocompetente, o valor preditivo negativo dos IGRAs é muito alto, principalmente quando usados em combinação com a prova tuberculínica negativa (Diel et al., 2011a) porém dados em adultos imunodeprimidos e crianças são escassos.

Diel et al. (2008) acompanharam por dezessete meses 601 contatos, sendo 53 contatos domiciliares menores de 15 anos, em local de baixa incidência de doença e avaliaram o valor prognóstico da prova tuberculínica e QFT- IT para progressão de doença. Verificaram que entre os indivíduos que não haviam se submetido ao tratamento, 14,6% dos que eram QFT positivos (6/41) e 2,3% (5/219) daqueles com prova tuberculínica reatora progrediram para doença, diferença essa estatisticamente significativa. Os resultados sugerem que o QFT- IT foi altamente específico e não foi afetado pelo estado vacinal com BCG.

Os mesmos autores continuaram recrutando contatos com tuberculose por mais dois anos e a amostra chegou a 903 indivíduos, sendo 106 crianças com resultados disponíveis de QFT e prova tuberculínica. Neste estudo houve uma taxa de progressão para tuberculose doença, nos não tratados, de 28,6% (6 de 21 crianças com QFT- IT positivo) e de 10,3% (13 de 126 adultos com QFT-IT positivo), diferença estatisticamente significativa (Diel, et al., 2011b).

A taxa de progressão para quem apresentou QFT positivo foi maior em comparação à da prova tuberculínica, independente do corte utilizado. Além disso, o

IGRA teve um valor preditivo negativo máximo, isto é, de 410 indivíduos com teste tuberculínico positivo e QFT negativo, nenhum progrediu para doença (Diel et al., 2011b).

Hill et al. (2008), em Gâmbia, acompanhando 2348 contatos domiciliares por 2 anos, concluiu que nem a prova tuberculínica nem o ELISpot tiveram valor prognóstico para evolução para doença ativa. A razão para esse resultado não foi clara, sendo discutido que talvez por ser um local de alta endemicidade, a transmissão da tuberculose também ocorra fora de casa.

Bakir et al. (2008), na Turquia, foram os primeiros a avaliarem o valor preditivo do IGRA em 908 crianças contatos recente de tuberculose acompanhados por 15 meses. Crianças com ELISpot positivo apresentaram um risco 3 a 4 vezes maior de desenvolver tuberculose ativa que aqueles com ELISpot negativo. A intensidade da resposta do ELISpot não demonstrou diferença estatisticamente significante entre os casos incidentes e aqueles que não desenvolveram tuberculose, mostrando que o resultado positivo do ELISpot é prognóstico mas a magnitude da resposta não aponta para o risco de progressão. Neste aspecto, o ELISpot difere do que ocorre com a prova tuberculínica, em que o tamanho da resposta se correlaciona com o risco de subsequente progressão para doença. Com a prova tuberculínica positiva, o risco de progressão para tuberculose era de 2,7 mais alto do que para aquelas com prova tuberculínica negativa. Neste estudo, a incidência de tuberculose nos contatos com ELISpot positivo foi semelhante à daqueles com prova tuberculínica positiva, entretanto a taxa de incidência deve ter sido subestimada porque grande proporção das crianças receberam quimioprevenção.

Um grande número de estudos para avaliar o desempenho dos IGRAs comparados a prova tuberculínica foi publicado com resultados bastante variáveis

quanto à concordância. Os estudos diferem quanto à epidemiologia local (alta ou baixa prevalência da doença), à composição da amostra (idade, em geral com adultos ou com pequeno número de crianças, estado imunitário como infectados pelo HIV, vacinados ou não com BCG, valor de corte da prova tuberculínica, tempo e grau de exposição ao caso índice) quanto aos testes estudados (maioria são com a prova tuberculínica e um IGRA comercial ou “in house”), quanto à situação em que estão sendo comparados, ou seja, para diagnóstico de tuberculose latente ou tuberculose ativa. Portanto, a concordância entre os testes é variável, podendo ser de moderada a alta ou mesmo apresentar baixa concordância (Adetifa et al., 2010; Connell et al., 2008; Hesselning et al., 2009; Tsolia et al., 2010).

Em estudos realizados em indivíduos contatos de tuberculose em países com alta prevalência de doença, a concordância entre os testes geralmente é boa. Em locais de baixa prevalência de tuberculose, a concordância depende do estado vacinal dos participantes, sendo maior na população não vacinada com BCG. Vários autores reforçam a necessidade de estudos longitudinais para elucidar a significância da discordância entre prova tuberculínica e IGRA (Connell et al., 2008, Dheda et al., 2009; Diel et al., 2011b).

Em relação ao desempenho dos IGRAs em crianças, os estudos são em menor número e poucos são aqueles com amostra restrita à faixa etária pediátrica (Nakaoka et al., 2006; Okada et al., 2008; Bakir et al., 2008; Tsolia et al., 2010; Critselis et al., 2012; Kampmann et al., 2009).

Kampmann et al. (2009), no Reino Unido, em estudo prospectivo, compararam o desempenho dos dois IGRAs comerciais (QFT-IT e T-SPOT.TB) com a prova tuberculínica, lado a lado, em crianças com tuberculose ativa e tuberculose latente. Para tuberculose ativa, comprovada por cultura, a sensibilidade da prova tuberculínica

foi 83%, o do QFT- IT foi 80 % e T- SPOT.TB foi 58%. A concordância entre os dois IGRAs foi baixa (66,7%).

Na tuberculose latente a concordância entre os dois IGRAs foi alta, mas a concordância da prova tuberculínica com um ou outro IGRA foi moderada. Os IGRAs podem ser usados na investigação de tuberculose latente, pois podem reduzir o número de crianças que recebem quimioprevenção. Neste estudo a vacina BCG não influenciou significativamente na proporção dos testes positivos ou na concordância entre os IGRAs. De acordo com esses resultados o IGRA negativo não exclui a tuberculose ativa, e não deve ser recomendado como única ferramenta para confirmar ou descartar tuberculose ativa.

Esta conclusão também foi encontrada por Nicol et al. em 2009, quando avaliaram crianças de baixa idade, contatos de tuberculose pelo T-SPOT.TB, e notaram uma grande proporção de crianças com evidência clínica e/ou microbiológica de tuberculose ativa com resultado negativo de T-SPOT.TB, chamando atenção que a sensibilidade deste pode estar prejudicada em crianças de baixa idade e que o T-SPOT.TB não deve ser usado para excluir tuberculose ativa.

A ocorrência de resultados indeterminados dos IGRAs varia significativamente entre os estudos com a porcentagem de 0 a 17% (Ling et al., 2011, Hesselning et al., 2009) . Esse resultado também varia entre os testes em geral, sendo mais descrito para o ELISA (QFT e QFT-IT) que para o ELISpot devido a baixa resposta ao mitógeno, principalmente em crianças menores de 4 anos (Bergamini et al., 2009; Banfield et al., 2012; Thomas et al., 2011) e imunocomprometidas (Ferrara et al., 2006; Hausteiner et al., 2009). Há estudos que discutem que o valor de corte principalmente para o QFT deveria ser ajustado às crianças (Okada et al., 2008; Lighter et al., 2009).

Cristelis et al. (2012), na Grécia, um país de baixa endemicidade para tuberculose, verificaram que embora a taxa de resultados indeterminados com o QFT-IT foi mais alta entre crianças jovens (8,1%) do que para crianças maiores (2,7%) e adolescentes (0,7%), os lactentes que tinham QFT-IT positivos produziam um mais alto título de IFN-gama que as crianças mais velhas. A resposta qualitativa (positivo ou negativo) do QFT-IT e também a quantidade de IFN-gama produzido não foi adversamente afetada pela baixa idade entre as crianças avaliadas para tuberculose latente. A concordância entre prova tuberculínica e QFT foi excelente em todas as idades, principalmente nos não imunizados e no grupo de crianças com exposição conhecida a tuberculose. O resultado positivo para o QFT foi inversamente associado à vacinação prévia pelo BCG. Sugeriu-se então que a BCG possa conferir proteção contra a infecção pelo *M. tuberculosis*, mas outros estudos avaliando a associação entre BCG e QFT devem ser realizados.

Algumas metanálises avaliaram o desempenho dos IGRAs em comparação com a prova tuberculínica para o diagnóstico de tuberculose em crianças.

Mandalakas et al. (2011), incluíram 32 estudos em 18 países, com 4122 crianças com média de idade de 7,6 anos e concluíram que, para o diagnóstico de tuberculose ativa, a sensibilidade global de ambos os testes (IGRAs e TT) foi semelhante quando avaliada em crianças com todas as categorias de tuberculose ativa. Encontraram sensibilidade de 80% (IC 95%: 70%-90%) para a prova tuberculínica, 83% (IC 95%: 75%-92%) para o QFT, e 84% (IC 95%: 63%-100%) para o T-SPOT.TB. Com relação à especificidade dos testes, encontraram para a prova tuberculínica a especificidade de 85% (IC 95%: 63%-100%), 91% (IC 95%: 78%-100%) para o QFT e de 94% (IC 95%: 87%-100%) para o T- SPOT.TB. Em análise estratificada, encontraram uma tendência de menor sensibilidade em todos os testes em estudos com crianças menores que 5

anos, porém o pequeno número de estudos limitou a demonstração de significância estatística. Esta revisão encontrou que tanto a prova tuberculínica como os IGRAs (QuantiFERON e T-SPOT.TB) têm precisão similar para o diagnóstico de tuberculose infecção e doença na criança.

Baseada na evidência gerada por essa revisão, a OMS desencorajou o uso de IGRAs para o diagnóstico de tuberculose ativa e tuberculose infecção em crianças vivendo em países de baixa ou média renda.

Machingaidze et al. (2011) examinaram a literatura disponível do uso do QuantiFERON em crianças imunocompetentes para o diagnóstico de tuberculose latente e tuberculose doença. Queriam analisar se o uso do QuantiFERON poderia melhorar a precisão diagnóstica para infecção latente ou doença na criança. Foram incluídos, nessa metanálise, 20 estudos na faixa etária de 0 a 18 anos. Para infecção latente, tanto em locais de alta ou baixa prevalência de doença, houve maior especificidade do QuantiFERON quando comparado a prova tuberculínica. Entretanto, a sensibilidade do QuantiFERON foi variável quando comparado a prova tuberculínica. Na detecção de tuberculose ativa, a sensibilidade do QuantiFERON não pareceu ser significativamente melhor que a prova tuberculínica, principalmente em locais com alta prevalência de doença.

Sun et al. (2011), em metanálise avaliando estudos de 2000 a 2011, concluíram que, no diagnóstico de tuberculose ativa na criança, a prova tuberculínica e os IGRAs têm sensibilidade similar (62% para o ELISpot, 70% para o QuantiFERON e 71% para a prova tuberculínica). Em contraste, a especificidade dos IGRAs é muito maior que a da prova tuberculínica, principalmente na criança vacinada com BCG (90% para o ELISpot, 100% para o QuantiFERON e 56% para a prova tuberculínica em todos os estudos e 49% em crianças vacinadas).

Chiappini et al. (2012), em metanálise, encontraram resultados semelhantes aos estudos acima mencionados. O desempenho dos IGRAs em crianças não mostrou melhor sensibilidade que a prova tuberculínica para diagnóstico da tuberculose infecção (74% para o T SPOT-TB e 79% para QFT-IT, e 82% para prova tuberculínica), porém uma alta especificidade (96% T-SPOT.TB, 95% para QFT-IT e significativamente menor para a prova tuberculínica (83%). Concluíram que os IGRAs se mostram promissores para melhorar o diagnóstico de tuberculose na infância: IGRAs são sensíveis e mais específicos que a prova tuberculínica para distinguir a infecção tuberculosa de outras infecções por micobactérias não tuberculosas ou por prévia vacinação com BCG.

Em metanálise recente, a alta especificidade do IGRAs em relação a prova tuberculínica foi observada em locais de alta renda (97%-98% vs 92%) mas não em países de baixa renda (85%-93% VS 90%), portanto não demonstraram melhor desempenho que a prova tuberculínica em países de baixa renda (Sollai et al., 2014). O quadro 1 resume as metanálises acima descritas.

Quadro 1. Metanálises publicadas com estudos que analisaram o uso de IGRAs na população pediátrica. PT: prova tuberculínica.

Autores, Ano	Características	Sensibilidade	Especificidade
Mandalakas et al. 2011	32 estudos 4122 crianças (7,6 anos)	PT- 0,80 (IC 95%: 0,70-0,90) QFT- 0,83 (IC 95%: 0,75-0,92) T SPOT.TB- 0,84 (IC 95%:0,63-1,00)	PT -0,85 (IC95%:0,69-1,00) QFT-0,91 (IC95%: 0,78-1,00) T-SPOT.TB-0,94 (IC95%: 0,87-1,00)
Machingaidze et al. 2011	20 estudos 3895 crianças (< 19 anos)	QFT-IT- 0,66 (IC95%:0,53-0,78) alta inc.TB: 0,55 (IC95%: 0,37-0,73) baixa inc. TB: 0,70 (IC95%:0,53-0,84)	QFT-IT:melhor especificidade que TT para LBTI
Sun et al., 2011	16 estudos 598 com tuberculose 432 controles	QFT-IT-0,70 (IC95%:0,65-0,75) T-SPOT.TB- 0,62 (IC 95%: 0,57-0,67) PT -0,71 (IC95%: 0,67-0,75)	QFT-IT-1,00 (IC95%:0,84-1,00) T-SPOT.TB-0,90 (IC95%:0,86-0,93) PT -0,56 (IC95%:0,50-0,61)
Chiappini et al., 2012	11 estudos sensibilidade 8 estudos especificidade	QFT-IT- 0,79 (IC95%:0,70-0,89) T SPOT.TB- 0,74 (IC95%:0,59-0,90) T PT -0,82 (IC 95%:0,72-0,93)	QFT-IT-0,95 (IC95%:0,93-0,97) T-SPOT.TB-0,96 (IC95%:0,93-1,00) PT -0,83 (IC95%:0,74-0,92)
Sollai et al., 2014	Global 31 estudos- QFT-IT. (6183 crianças) 14 estudos- T-SPOT.TB (2518 crianças) 34 estudos- TT (6439 crianças)	Alta renda, estudos microbiológico + QFT-IT-0,86(IC95%0,81-0,90) T SPOT.TB- 0,79 (IC95%:0,69-0,87) PT -0,86 (IC95%:0,79-0,81) Baixa renda, microbiológico + QFT- 0,66 (IC95%:0,55-0,76) TSPOT.TB- 0,80 (IC95%:0,73-0,86) PT =0,74 (IC95%: 0,68-0,80)	Alta renda, global QFT-IT-0,97(IC95%:0,96-0,98) T-SPOT.TB-0,98(IC95%:0,96-0,99) PT -0,92(IC95%:0,89-0,93) Baixa renda, global QFT-IT-0,85(IC95%:0,82-0,88) T-SPOT.TB-0,93(IC95%:0,87-0,96) PT -0,90(IC95%:0,87-0,92)

Tsolia et al. (2010) compararam o desempenho do QFT-IT com o da prova tuberculínica para o diagnóstico de tuberculose em criança. Verificaram excelente concordância entre os testes para os não vacinados com BCG tanto para diagnóstico de tuberculose infecção como tuberculose doença. Para os vacinados com BCG, encontraram concordância razoável entre os testes em crianças com tuberculose ativa e pobre para os contatos de tuberculose. Resultados discordantes foram mais

frequentes entre os vacinados, particularmente naqueles com menor probabilidade de infecção. O QFT-IT foi comparável com a prova tuberculínica no diagnóstico de tuberculose doença ou infecção latente em crianças com contato de tuberculose e tem melhor especificidade.

Nos últimos anos foram publicadas várias diretrizes quanto ao emprego dos IGRAs para diagnóstico de tuberculose infecção, com grande diversidade nas recomendações. De modo geral, a recomendação de utilizar os IGRAs tem aumentado em países com baixa incidência de doença. Em locais de alta incidência, com recursos escassos, a prova tuberculínica permanece o preferencialmente indicado, pois não há forte evidência que o IGRA seja superior a esta (Denkinger, Dheda, Pai, 2011).

Em relação à avaliação de **crianças** com contato com tuberculose, muitas diretrizes orientam usar a prova tuberculínica sozinha (OMS, Centro Europeu de Controle de Doenças (ECDC), Brasil, Suíça, França) ou somente para crianças menores de 5 anos (Canadá, Japão, Irlanda, o Centro de Controle de Doenças (CDC) de Atlanta e a Academia Americana de Pediatria (AAP). Outras diretrizes recomendam prova tuberculínica associado ao IGRA, se prova tuberculínica é positiva, especialmente para crianças vacinadas com BCG (Alemanha, Itália, Espanha, Arábia Saudita, Holanda e Bulgária) (Denkinger, Dheda, Pai, 2011).

Algumas diretrizes limitam esta recomendação para crianças maiores de 5 anos (Canadá, Japão, Portugal, Reino Unido, Irlanda e AAP). A AAP embora dê preferência ao emprego dos dois testes, também permite utilizar em crianças maiores de 5 anos somente o IGRA, ao invés da prova tuberculínica.

O emprego da prova tuberculínica **ou** de um IGRA é permitido no CDC (preferível prova tuberculínica em < 5 anos), Dinamarca, Coreia do Sul e Finlândia.

Poucos países recomendam **ambos** os testes conjuntamente (Canadá, para contatos de alto risco, República Tcheca e Croácia) ou sugerem que o IGRA possa ser usado como um teste suplementar (Austrália, para crianças maiores de 2 anos) ou se prova tuberculínica inicial é negativa (Portugal, para menores de 5 anos, Reino Unido para crianças de 2 a 5 anos) (Denkinger, Dheda, Pai, 2011).

1.5 Justificativa

Devido à dificuldade para o estabelecimento do diagnóstico da infecção pelo *M. tuberculosis* na criança e à escassez de dados sobre o desempenho destes testes no nosso meio, o presente estudo foi idealizado para avaliar a possível utilização destes testes em nosso meio.

1.6 Hipótese

Os ensaios de liberação de IFN-gama (IGRAs) constituem um recurso laboratorial de valor no diagnóstico de tuberculose em crianças e adolescentes menores de 15 anos, imunocompetentes, contatos de adultos com tuberculose pulmonar ativa em nosso meio.

- Descrever a taxa global de infecção pelo *M. tuberculosis* entre crianças e adolescentes menores de 15 anos contatos de adultos com tuberculose pulmonar através dos três testes: prova tuberculínica, QFT-IT e T- SPOT.TB e compará-la a uma população sem contato com tuberculose, de idade e nível sócio-econômico semelhantes.
- Descrever a taxa de infecção pelo *M. tuberculosis* utilizando isoladamente cada um dos testes: a prova tuberculínica, o QFT-IT e o T-SPOT.TB nos mesmos grupos de crianças.
- Descrever a taxa de incremento diagnóstico obtida com a repetição da prova tuberculínica e com a associação de cada um dos ensaios de liberação de interferon gama a prova tuberculínica.

3 Referências Bibliográficas

Abubakar I, Stagg HR, Whitworth H, Lalvani A. How should I interpret an interferon gamma release assay result for tuberculosis infection? *Thorax*. 2013;68(3):298–301.

Adetifa IM, Ota MO, Jeffries DJ, Hammond A, Lugos MD, Donkor S et al. Commercial interferon gamma release assays compared to the tuberculin skin test for diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in childhood contacts in the Gambia. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29:439-43.

Almeida LM, Barbieri MA, Da Paixão AC, Cuevas LE. Use of purified protein derivative to assess the risk of infection in children in close contact with adults with tuberculosis in a population with high Calmette-Guérin bacillus coverage. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20:1061-5.

Amanatidou V, Syridou G, Mavrikou M, Tsolia M. Latent tuberculosis infection in children: diagnostic approaches. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31:1285-94.

Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty IM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet*. 2000;356(23):1099-1104.

Bakir M, Millington KA, Soysal A, Deeks JJ, Efee S, Aslan Y et al. Prognostic value of a T cell based, interferon- γ biomarker in children with tuberculosis contact. *Ann Intern Med*. 2008;149(11):777-86.

Bamford AR, Crook AM, Clark JE, Nademi Z, Dixon G, Paton JY. Comparison of interferon-gamma release assays and tuberculin skin test in predicting active tuberculosis (TB) in children in the UK: a paediatric TB network study. *Arch Dis Child*. 2010;95(3):180-6.

Banfield S, Pascoe E, Thambiran A, Siafarikas A, Burgner D. Factors associated with the performance of a blood-based interferon- γ release assay in diagnosing tuberculosis. *PloS One*. 2012;7(6):e38556.

Battersby AJ, Kampmann B, Burl S. Vitamin D in early childhood and the effect on immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Dev Immunol*. 2012;2012:430972. doi: 10.1155/2012/430972. Epub 2012 Jul 5

Bergamini BM, Losi M, Vaienti F, D'Amico R, Meccugni B, Meacci M, et al.. Performance of commercial blood tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection in children and adolescents. *Pediatrics*. 2009;123(3):e419–24.

Cailleaux-Cezar M, Melo D de A, Xavier GM, de Salles CLG, Melo FCQ, Ruffino-Neto A et al. Tuberculosis incidence among contacts of active pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2009;13(2):190-5.

Chiappini E, Accetta G, Bonsignori F, Boddi V, Galli L, Biggeri A, De Martino M. Interferon- γ release assays for the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children: a systematic review and meta-analysis. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2012; 25(3):557-64.

Connell TG, Ritz N, Paxton GA, Buttery JP, Curtis N, Ranganathan SC. A three – way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB Gold and T-SPOT-TB in children. *PLoS One*. 2008;3(7):e2624.

Critselis E, Amanatidou V, Syridou G, Spyridis NP, Mavrikou M, Papadopoulos NG et al. The effect of age on Whole Blood Interferon-Gamma release assay response among children investigated for latent tuberculosis infection. *J Pediatr*. 2012;161(4):632-8.

Davies PDO. A European framework for effective tuberculosis control. *Eur Respir J*. 2002;19(4):590–2.

Denkinger CM, Dheda K, Pai M. Guidelines on Interferon- γ release assays for tuberculosis infection: concordance, discordance or confusion? *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:806-14.

Dheda K, Smit R van Z, Badri M, Pai M. T- cell interferon release assays for the rapid immunodiagnosis of tuberculosis: clinical utility in high- burden VS low –burden settings. *Curr Opin Pulm Med*. 2009;15:188-200.

Dheda K, Schwander SK, Zhu B, van Zyl-Smit RN, Zhang Y. The immunology of tuberculosis: from bench to bedside. *Respirology*. 2010;15(3):433-50.

Diel R, Loddenkemper R, Meywald-Walter K, Niemann S, Nienhaus A. Predictive value of a whole blood IFN-gamma assay for the development of active tuberculosis disease after recent infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177(10):1164-70.

Diel R, Loddenkemper R, Meywald-Walter K, Gottschalk R, Nienhaus A. Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB-Gold In Tube assay, and T-Spot.TB test in contact investigations for tuberculosis. *Chest*. 2009;135(4):1010–8.

Diel R, Goletti D, Ferrara G, Bothamley G, Cirillo D, Kampmann B et al. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J*. 2011 a;37:88–99.

Diel R, Loddenkemper R, Niemann S, Meywald-Walter K, Nienhaus A. Negative and positive predictive value of a whole-blood interferon- γ release assay for developing active tuberculosis: an update. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011b;183(1):88-95.

Donald PR, Marais BJ, Barry CE. Age and the epidemiology and pathogenesis of tuberculosis. *Lancet* . 2010;375 (9729):1852–4.

Ehlers S, Schaible UE. The granuloma in tuberculosis: dynamics of a host-pathogen collusion. *Front Immunol*. 2012;3:411.

Ferrara G, Losi M, D'Amico R, Roversi P, Piro R, Meacci M et al. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*: a prospective study. *Lancet*. 2006;367(9519):1328-34.

Fox GJ, Barry SE, Britton WJ, Marks GB. Contact investigation for tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J*. 2013;41(1):140–56.

Haustein T, Ridout DA, Hartley JC, Thaker U, Shingadia D, Klein NJ et al. The likelihood of an indeterminate test result from a whole-blood interferon-gamma release assay for the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children correlates with age and immune status. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28(8):669-73.

Hesseling AC, Mandalakas AM, Kirchner HL, Chegou NN, Marais BJ, Stanley K. Highly discordant T cell responses in individuals with recent exposure to household tuberculosis. *Thorax*. 2009;64(10):840-6.

Hill PC, Brookes RH, Adetifa IM, Fox A, Jackson-Sillah D, Lugos MD et al. Comparison of enzyme-linked immunospot assay and tuberculin skin test in healthy children exposed to *Mycobacterium tuberculosis*. *Pediatrics*. 2006;117(5):1542-8.

Hill PC, Jackson-Sillah DJ, Fox A, Brookes RH, de Jong BC, Lugos MD et al. Incidence of tuberculosis and the predictive value of ELISPOT and Mantoux tests in Gambian case contacts. *PLoS One*. 2008;3(1):e1379.

Kampmann B, Wittaker E, Williams A, Walters S, Gordon A, Martinez-Alier N et al. Interferon- γ release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test. *Eur Respir J* 2009;33(6):1374-1382.

Lalvani A, Pathan AA, McShane H, Wilkinson RJ, Latif M, Conlon CP et al.. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Am J Respir Critical Care Med*. 2001;163(4):824–8.

Lalvani A. Diagnosing tuberculosis infection in the 21st century: new tools to tackle an old enemy. *Chest*. 2007;131(6):1898-906.

Lalvani A, Pareek M. A 100 year update on diagnosis of tuberculosis infection. *Br Med Bull*. 2010;93 69-84.

Lawn SD, Wood R, Wilkinson RJ. Changing concepts of “latent tuberculosis infection” in patients living with HIV infection. *Clin Dev Immunol*. 2011;2011. pii: 980594. doi: 10.1155/2011/980594. Epub 2010 Sep 26

Lighter J, Rigaud M, Eduardo R, Peng CH, Pollack H. Latent tuberculosis diagnosis in children by using the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test. *Pediatrics*. 2009;123(1):30-7.

Ling DI, Zwerling AA, Steingart KR, Pai M. Immune- based diagnostics for TB in children: what is the evidence? *Paediatr Respir Rev*. 2011;12:9-15.

Machingaidze S, Wiysonge CS, Gonzalez-Angulo Y, Hatherill M, Moyo S, Hanekom W, Mahomed H. The utility of an interferon gamma release assay for diagnosis of latent tuberculosis infection and disease in children: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30(8):694-700.

Maciel EL, Vieira LW, Molina LP, Alves R, Prado TN, Dietze R. Juvenile household contacts aged 15 or younger of patients with pulmonary TB in the greater metropolitan area of Vitória, Brazil: a cohort study. *J Bras Pneumol* 2009;35(4):359-66.

Mandalakas AM, Detjen AK, Hesselning AC, Benedetti A, Menzies D. Interferon-gamma release assays and childhood tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011;15:1018-32.

Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS, Hesselning AC, Obihara CC, Starke JJ et al. The natural history of childhood intra-thoracic tuberculosis: a critical review of literature from the pre-chemotherapy era. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2004;8(4):392–402.

Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS, Beyers N, Donald PR, Starke JR. Childhood Pulmonary Tuberculosis. Old Wisdom and New Challenges. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173: 1078–90.

Marais BJ, Graham SM, Maeurer M, Zumla A. Progress and challenges in childhood tuberculosis. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(4):287–9.

Mahomed H, Hawkrigde T, Verver S, Abrahams D, Geiter L, Hatherill M. The Tuberculin Skin Test versus QuantiFERON TB Gold® in Predicting Tuberculosis Disease in an Adolescent Cohort Study in South Africa. *Plos One*. 2011;6(3):e17984.

Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de Controle da Tuberculose, Nota técnica sobre as mudanças no tratamento da tuberculose no Brasil para adultos e adolescentes [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2008 [citado 2013 Ago 7]. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota_tecnica_versao_28_de_agosto_v_5.pdf

Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de controle da Tuberculose. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2010. 185 p.

Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2011. 284 p.

Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde. Tuberculose: alinhada com o social, afinada com a tecnologia. *Bol Epidemiol* [Internet]. 2013a [citado 2013 jul 29]. 44:1-6. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/texto/10231/783/boletim-epidemiologico-tuberculose-2013.html>

Ministério da Saúde (BR). Tuberculose [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2013b. Principais Indicadores de Tuberculose; [citado 2013 Ago 16]. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1527

Muñoz L, Santin M. Interferon- γ release assays versus tuberculin skin test for targeting people for tuberculosis preventive treatment: An evidence-based review. *J Infect.* 2013; 66:381-387.

Nakaoka H, Lawson L, Squire SB, Coulter B, Ravn P, Brock I et al. Risk for tuberculosis among Children. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(9):1383-8.

Nicol MP, Davies MA, Wood K, Hatherill M, Workman L, Hawkridge A. Comparison of T-SPOT.TB assay and tuberculin skin test for the evaluation of young children at high risk for tuberculosis in a community setting. *Pediatrics.* 2009;123(1):38-43.

Norbis L, Miotto P, Alagna R, Cirillo DM. Tuberculosis: lights and shadows in the current diagnostic landscape. *New Microbiol.* 2013;36(2):111–20.

Okada K, Mao TE, Mori T, Miura T, Sugiyama T, Yoshiyama T et al., Performance of an interferon-gamma release assay for diagnosing latent tuberculosis infection in children. *Epidemiol Infect.* 2008;136(9):1179-87.

Ottenhof THM. The knowns and unknowns of the immunopathogenesis of tuberculosis. *Intern J Tuberc Lung Dis.* 2012;16(11):1424-32.

Oxford Immunotec. T-SPOT[®].TB gains FDA premarket approval [Internet].Oxford (UK): Oxford Immunotec,{cited 2013 ago 14 }. Available from: <http://www.oxfordimmunotec.com/Default.aspx?DN=5d77eee5-db72-46c1-80c8-f93986949598>

Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic Review: T- Cell -based Assays for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection: An Update. *Ann Intern Med.* 2008;149:177-84.

San Pedro A, Oliveira RM. Tuberculose e indicadores socioeconômicos:revisão sistemática da literatura. *Rev Panam Salud Publica.* 2013;33(4):294–301.

Smieja MJ, Marchetti CA, Cook DJ, Smaill FM. Isoniazida para a prevenção de tuberculose em pessoas não infectadas pelo HIV (Revisão Cochrane). *Cochrane Database Syst Rev.* 2000; (2): CD001363.

Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. III Diretrizes para Tuberculose da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. *J Bras Pneumol.* 2009;35(10):1018-48.

Sollai S, Galli L, de Martino M, Chiappini E. Systematic review and meta-analysis on the utility of Interferon-gamma release assays for the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection in children: a 2013 update. *BMC Infect Dis.* 2014; 14(Suppl 1): S6

Sun L, Xiao J, Miao Q, Feng WX, Wu XR, Yin QQ et al. Interferon gamma release assay in diagnosis of pediatric tuberculosis: a meta-analysis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2011;63(2):165-73.

Teixeira HC, Abramo C, Munk ME. Immunological diagnosis of tuberculosis: problems and strategies for success. *J Bras Pneumol*. 2007;33(3):323-34.

Thomas B, Pugalenth A, Patel H, Woltmann G, Bankart J, Hoskyns W. Concordance between tuberculin skin test and interferon- γ assay and interferon- γ response to mitogen in pediatric tuberculosis contacts. *Pediatr Pulmonol*. 2011;46 (12):1225-32.

Tsolia MN, Mavikrou M, Critselis E, Papadopoulos NG, Makrinioti H, Spyridis NP et al. Whole blood interferon- γ release assay is a useful tool for the diagnosis of tuberculosis infection particularly among bacilli Calmette Guerin- vaccinated children. *Ped Infect Dis J*. 2010;29(12):1137-40.

Vanden Driessche K, Persson A, Marais BJ, Fink PJ, Urdahl KB. Immune vulnerability of infants to tuberculosis. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013:781320. doi: 10.1155/2013/781320. Epub 2013 May 13

Walzl G, Ronacher K, Hanekom W, Scriba TJ, Zumla A. Immunological biomarkers of tuberculosis *Nat Rev Immunol*. 2011;11(5):343-54.

Whitworth HS, Scott M, Connell DW, Dongés B, Lalvani, A. IGRAs - The gateway to T cell based TB diagnosis. *Methods (San Diego, Calif.)* 2013;61(1):52– 62.

World Health Organization, WHO Anthro Plus [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2007a [cited 2013 Ago 19]. Available from: www.who.int/growthref/tools/en/

World Health Organization. Stop Tb Partnership childhood TB Subgroup. Chapter 4: Childhood contact screening and management. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2007b;11(1):12-5.

World Health Organization. WHO Anthro [Internet]. Version 3.2.2 Geneva: World Health Organization; 2011a Jan [cited 2013 Ago 19]. Available from: www.who.int/childgrowth/software/en/

World Health Organization. Use of tuberculosis interferon-gamma release assays (IGRAs) in low- and middle-income countries: Policy Statement [Internet]. Geneva: World Health Organization ; 2011b [cited 2013 Ago 19]. 61 p.

World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2012. WHO Library. Geneva, Suíça, 2012. 89p.

World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2013. WHO Library. Geneva, Suíça, 2013. 97p.

Yassin MA, Petrucci R, Garie KT, Harper G, Teshome A, Arbide I et al. Use of tuberculin skin test, IFN- γ release assays and IFN- γ -induced protein-10 to identify children with TB infection. *Eur Respir J*. 2013;41(3):644-8.

Zar HJ, Udwadia ZF. Advances in tuberculosis 2011-2012. *Thorax*. 2013;68(3):283–7.

Bibliografia consultada

Patrias K. Citing medicine: the NLM style guide for authors, editors, and publishers [Internet]. 2nd ed. Wendling DL, technical editor. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2007 - [updated 2011 Sep 15; cited *Year Month Day*]. Available from: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>

Rother ET, Braga MER. Como elaborar sua tese: estruturas e referências. 2ªed.rev.ampl. São Paulo: B C Gráfica e Editora Ltda, 2005.122p.

Rate of tuberculosis infection in children and adolescents with household contact of adults with active pulmonary tuberculosis as assessed by tuberculin skin test and interferon-gamma release assays

FERRARINI, Maria Aparecida Gadiani¹; SPINA, Fernanda Garcia¹; WECKX, Lily Yin¹; LEDERMAN, Henrique Manoel²; de MORAES-PINTO, Maria Isabel¹.

1-Department of Pediatrics, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil.

2-Departament of Diagnostic Imaging, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil.

Institution: Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil.

Support Statement: This study was funded by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brazil: **2009/07603-7**.

Statement of interest: none to declare

Corresponding author

Maria Isabel de Moraes Pinto, M.D, Ph.D.

Rua Pedro de Toledo, 781/9ºandar - São Paulo -SP -04039-032 - Brazil

email: m.isabelmp@uol.com.br

Telephone: 55 (11) 5574 6471

Fax: 55 (11) 5575 6928

Abstract

Introduction: Latent tuberculosis infection (LTBI) detection targeting treatment for high-risk individuals to disease is important for TB control and eradication. **Objective:** To evaluate the response of TST, QFT-IT and T-SPOT.TB in two groups of immunocompetent children and adolescents under 15 years of age, one of them with active pulmonary tuberculosis contact and another one without known exposure. **Methods:** Both groups were analyzed by clinical and radiological assessment, as well as by TST, QFT-IT and T-SPOT.TB, with repetition of these three tests after 8 weeks in the exposed group if results were negative in the first evaluation. Individuals with a positive test result without clinical findings were treated for LTBI and at the end of treatment the tests were repeated. **Results:** One hundred and one children and adolescents were evaluated, 59 TB exposed and 42 without known exposure. The rate of infection was 69.5% and 9.5% for the exposed and not exposed TB group, respectively. When only one test was considered, the infection rate for the exposed group was 61% for TST, 57.6% in the first and 3.4% in the second evaluation; 57.6% to T-SPOT.TB, 55.9% in the first and 1.7% in the second evaluation; and 59.3% for QFT-IT, 57.6% in the first and 1.7% in the second evaluation. The agreement between the three tests was 83.1% and 88.1% for the exposed and not exposed group, respectively. T-SPOT.TB added 4 /25 people with negative TST (16%; 95%IC: 1,6%-30,4%) and QFT-IT added 3/25 individuals with negative TST (12%; 95%IC: 0%-24,7%) in the exposed group. In the multivariate analysis, the risk factors associated to TB infection were contact with an adult with active pulmonary tuberculosis (OR: 10.77; 95%CI: 3.11-37.29) and to sleep in the same room (OR: 7.06; 95%CI: 1.76-28.24). No qualitative changes were observed in the test results after treatment, but there was a quantitative variation in both TST, which showed a significant increase in response, and in T-SPOT.TB, which showed a significant reduction in the number of interferon-gamma producing cells after *in vitro* stimulation with *M. tuberculosis* specific antigens. **Conclusions:** In immunocompetent children and adolescents, TST had a similar performance to IGRAs and detected a high rate of LTBI. In clinical practice, the TST is enough to the diagnose tuberculosis in children and adolescents exposed to an active pulmonary tuberculosis adult. The IGRAs should be reserved for selected cases.

Resumo

Introdução: A detecção da infecção tuberculosa (TB) latente visando o tratamento nos grupos de maior risco de adoecimento é uma medida importante para o controle da doença e sua eliminação.

Objetivo: Avaliar a resposta da prova tuberculínica e de ensaios de liberação de interferon-gama (IGRAs) (QuantiFERON-TB Gold® e T-SPOT.TB®) em dois grupos de crianças e adolescentes menores que 15 anos, um com exposição domiciliar à tuberculose pulmonar ativa e outro sem contato conhecido.

Métodos: Foram avaliados dois grupos de indivíduos imunocompetentes através do exame clínico, radiológico, prova tuberculínica, QFT-IT e T-SPOT.TB com repetição dos três testes após 8 semanas para o grupo exposto à tuberculose quando apresentavam resultados negativos na primeira avaliação. Os indivíduos com um dos testes positivos sem alteração clínica foram tratados para TB latente e reavaliados com os mesmos testes no final.

Resultados: Cento e uma crianças e adolescentes, 59 expostas e 42 não expostas, foram avaliadas. Todas com exceção de uma haviam recebido BCG nos primeiros meses de vida. No grupo exposto a taxa de infecção foi de 69,5% e no grupo não exposto, 9,5%. Quando cada teste foi empregado isoladamente, obtiveram-se as seguintes taxas de infecção no grupo exposto: 61% para a prova tuberculínica, sendo 57,6% na primeira avaliação, acrescentando-se 3,4% na segunda avaliação; 57,6% para o T-SPOT.TB, sendo 55,9% na primeira avaliação e outros 1,7% na segunda avaliação e 59,3% para o QFT-IT, sendo 57,6% na primeira avaliação e mais 1,7% na segunda avaliação. A concordância entre os três testes foi de 83,1% para o grupo exposto e de 88,1% para o grupo não exposto. O T-SPOT.TB acrescentou 4/25 crianças com prova tuberculínica não reatora (16%; IC95%: 1,6%-30,4%) e o QFT-IT acrescentou 3/25 crianças com prova tuberculínica não reatora (12%; IC95%: 0%-24,7%) no grupo exposto. Na análise multivariada, os fatores de risco associados à infecção tuberculosa foram o contato com adulto com tuberculose pulmonar ativa (OR: 10,77; IC95%: 3,11-37,29) e dormir no mesmo quarto (OR: 7,06; IC95%: 1,76-28,24). Não houve variação qualitativa nos testes após o tratamento, porém observou-se variação quantitativa tanto na prova tuberculínica, que apresentou um incremento significativo na resposta, como no T-SPOT.TB, que apresentou uma redução

significante do número de células produtoras de interferon-gama específicas para antígenos do *M. tuberculosis*.

Conclusão: Em crianças e adolescentes imunocompetentes, a prova tuberculínica teve um desempenho semelhante aos testes de liberação de interferon-gama e detectou uma alta taxa de infecção tuberculosa latente. Na prática clínica a prova tuberculínica é suficiente para o diagnóstico da tuberculose em crianças e adolescentes imunocompetentes expostos a adultos com doença pulmonar ativa. Nessa população, os IGRAs teriam sua indicação em casos selecionados.

Introduction

Worldwide approximately 2 billion people have latent *Mycobacterium tuberculosis* infection (LTBI). The risk of progression from LTBI to tuberculosis (TB) disease is highest in some individuals such as young children, who are also more likely to develop serious disease due decreased ability of their immune system to contain infection (Marais et al., 2004, Donald et al. 2010, Vanden Driessche et al., 2013). Treatment of LTBI in target groups with high risk of infection and development of the disease is nowadays accepted as an essential strategy to eliminate TB (Amanatidou et al. 2011, Smieja et al. 2000, Ministério da Saúde, 2010).

Tuberculin skin test (TST) has been used as the sole immunodiagnostic test for the detection of *Mycobacterium* infection for approximately a century. However, its limitations are well described: low specificity due to cross-reaction with nontuberculous mycobacteria (NTM) or with *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccine strains as well as low sensitivity in young children and immunosuppressed individuals (Lalvani and Pareek, 2010; Singh et al., 2011). Moreover, the need for a repeat visit to evaluate TST result and the possibility of a boosting effect with repeat testing are also cited as shortcomings of the assay (Menzies, 1999).

The identification of *M. tuberculosis* antigens absent from BCG and most NTMs has allowed for the development of a new generation of more specific diagnostics tests. These tests detect interferon-gamma (IFN- γ) released by T cells after *in vitro* exposure to antigens from *M. tuberculosis*.

The antigens used are the early secreted antigenic target 6 (ESAT-6) and culture filtrate protein 10 (CFP-10), which are transcribed from region of difference 1, a region on the

mycobacterial genome specific for *M. tuberculosis* and absent in BCG strain and in most other mycobacteria (Andersen et al., 2000; Lalvani et al. 2001; Lalvani 2007). Two commercial interferon-gamma release assays (IGRAs): T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, UK) and QuantiFERON-TB Gold In-Tube assay (QFT- IT) (Cellestis, Australia) have been developed.

The QuantiFERON-TB Gold In-Tube assay (QFT- IT) (Cellestis, Australia) is a newer version of the QuantiFERON Gold (QFT- G) that includes a third antigen, TB7.7, to enhance the sensitivity of the assay without reducing its specificity.

Although IGRAs are expensive and require an equipped laboratory with trained staff, they have operational advantages over TST, and they appear to have higher specificity compared to TST. However like TST, they cannot distinguish between latent and active TB disease (Lalvani, 2010)

The initial studies comparing TST and IGRA were performed in adults (Lalvani, Pathan et al., 2001; Tsouris et al., 2006) or mixed samples with adults and children (Hill et al., 2008; Ferrara et al., 2006; Machado Jr et al., 2008; Hesselting et al. 2009; Diel et al. 2011; but more recent studies have evaluated these new tests exclusively among children (Hill et al., 2006; Nakaoka et al., 2006; Okada et al., 2008; Bakir et al., 2008; Connell et al., 2008; Nicol et al. 2009; Kampmann et al., 2009; Lighter et al., 2009; Adetifa et al., 2010; Critselis et al., 2012; Blandinières et al. 2013; Yassin et al., 2013; Ling et al., 2013).

To the best of our knowledge, no studies comparing TST and IGRA only in children who were household contacts of adults with active pulmonary TB have been performed in Brazil.

The goals of this study were:

- 1- To describe the total rate of *M. tuberculosis* infection among children and adolescents with active TB household contact across three tests: TST, T- SPOT.TB and QFT-IT and to compare this rate in children and adolescents without known TB exposure.
- 2-To describe the LTBI rate for each test in the same groups of children and adolescents.
- 3-To describe the diagnostic increment rate with TST repetition, as recommended by Ministry of Health in Brazil when the TST is negative in the first evaluation, and the diagnostic increment rate when each IGRA is performed in parallel to TST.

Patients and Methods

This is a prospective study that was conducted from August 2010 to June 2013 at the Federal University of São Paulo, in São Paulo, Brazil, in two groups of children and adolescents under 15 years of age: a group of children who were household contacts of adults with active TB (known exposure group) and another group without known contact with TB (control group).

Adult cases of active TB had sputum and/or bronchoalveolar lavage (BAL) positive smear or a positive culture for *M. tuberculosis* complex.

Exclusion criteria were children with known primary or secondary immunodeficiency or a clinical condition suggestive of possible immunodeficiency. Also, children with previous TB treatment were excluded.

Children from known exposure and control group were submitted to a clinical evaluation performed by one of the authors (MAGF). They were then sent for chest radiography and tested for TST, T-SPOT.TB, QFT-IT and HIV infection.

Children and adolescents from control group were discharged after the first evaluation if TST and the two IGRA proved negative, and the chest radiography did not present any image suggestive of pulmonary disease.

Children and adolescents from known exposure group had another set of tests performed after eight weeks if they were all negative in the first evaluation. When one of the three tests (TST, QFT-IT or T- SPOT.TB) was positive either in the first evaluation or after eight weeks and there was no evidence of disease, treatment for LTBI was initiated. They were then seen every 30 days by the same pediatrician (MAGF) for 6 months, after which laboratorial reevaluation was performed once more (Figure 1).

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Federal University of São Paulo, in São Paulo, Brazil (protocol number 2121/08). All parents or guardians of eligible participants gave written informed consent for study participation before enrolment.

Nutritional evaluation

Participants from both groups were evaluated for Z score body mass index using the World Health Organization reference values for children under 5 years (World Health Organization, 2011) and for those from 5 to 19 years (World Health Organization, 2007).

Socioeconomic classification

The socioeconomic classification of each adult case was assessed using a questionnaire of the Brazilian Association of Population Studies (ABEP, 2008).

Tuberculin skin test

Two units of purified protein derivative (PPD) RT23 (Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark) were applied to the volar surface of the left lower forearm according to the intradermal Mantoux method. A trained nurse assessed the transverse diameter of skin induration in millimeters after 72 hours of PPD administration. TST results were considered positive depending on previous BCG vaccination: $\geq 5\text{mm}$, when the child had received BCG more than two years prior and $\geq 10\text{mm}$, when BCG was administered in the last two years.

Laboratory assays for TB immunodiagnosis

Peripheral blood samples were obtained simultaneously for both assays and all blood samples were processed within 2 hours of phlebotomy, as recommended. The commercially available T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, Abingdon, UK) and the QuantiFERON-TB Gold In-tube (QFT-IT) system (Cellestis, Carnegie, Australia) were used in all assays and performed as recommended by the manufacturers.

HIV testing

All the children were submitted to a HIV serology test. The Determine™ HIV-1/2 kit (Abbott, Tokyo, Japan) was performed following the manufacturer's recommendations.

Chest radiography

All children were submitted to chest radiography at the first evaluation. All chest radiographies were analyzed by a single experienced staff radiologist (HML), who was blind to the clinical data.

Definitions and Treatment

The criteria established by III Brazilian Thoracic Association on Tuberculosis (2009) were employed.

Latent Tuberculosis (LTBI): LTBI was considered in children and adolescents under 15 years who presented a positive TST with no signs of active disease. Alternatively, for this study, children or adolescents with positive results for QFT-IT or T-SPOT.TB were also considered infected.

LTBI treatment consisted of isoniazid at the dose of 5 to 10 mg/kg/day (maximum 300mg/day) for 6 months (III Brazilian Thoracic Association Guidelines on Tuberculosis (2009)).

Active tuberculosis: Diagnosis of active tuberculosis was considered according to a scoring system recommended by the Brazilian National Ministry of Health and it was based on clinical and radiological findings, known contact with an adult with tuberculosis in the last 2 years, TST result and nutritional status (Pedrozo et al., 2010). Active disease was treated according to the III Brazilian Thoracic Association Guidelines on Tuberculosis (2009).

Statistical Analysis

Qualitative data are presented as n (%) and quantitative data are presented as median and interquartile range (Q1-Q3). Categorical variables were compared with χ^2 test or Fisher's exact test. Continuous variables with non normal distributions were compared with the nonparametric Mann-Whitney test.

Univariate logistic regression analysis was used to evaluate the association between selected demographic and patient's characteristics and a positive (versus negative) IGRA outcome. The following risk factors for TB infection were analyzed: gender, age, baciliferous index case versus non bacilliferous, duration of disease in index case, period of exposure to index case, degree of exposure to index case. Variables with a p-value lower than 0.20 were then analyzed on a multivariate logistic regression.

Mc Nemar test was employed to compare qualitative response change of QFT-IT and T-SPOT.TB after treatment. Paired t test or Wilcoxon test were used to assess quantitative alterations of TST and T-SPOT.TB after treatment.

A p value < 0.05 was considered statistically significant. All analyses were performed using Minitab® 16-1 (Minitab, State College, USA).

Results

Of the initial sample of 111 children and adolescents, 10 were excluded (6 from the known exposure group and 4 from the control group), so that 101 children and adolescents (59 from known exposure group and 42 from control group) were evaluated.

Individuals from both groups were comparable in relation to age, gender and nutritional status (Table 1). All children except one were vaccinated with BCG at birth. Only this child did not have a BCG scar neither records to prove her BCG vaccination. The majority of index cases in the contact group were parents (22/59, 37.3%) and they belonged to socioeconomic classification C (60.6%) and B (30.3%) (Table 2).

Among the 59 children and adolescents from the known exposure group, 38 (64.4%) were submitted to treatment for LTBI due to positivity of one or more tests in the first assessment. Twenty-one (21/59; 35.6%) had negative results and were invited to repeat the three tests, but 2 refused, so that 19 children repeated the tests in 8 weeks. Among those, 3 of them were diagnosed with LTBI and submitted to treatment.

Among the 42 children and adolescents from control group, 38 presented negative results in all the tests in the first evaluation and were then discharged. Four (4/42; 9.5%) of them presented one or more positive tests and were submitted to treatment for LTBI and retested after that. Among those 4 controls, only one child had positive results in the three tests. Two children were positive only for TST and one child was positive for QFT-IT and negative for TST and T-SPOT.TB.

No cases of children or adolescents with active TB were diagnosed.

Of 45 LTBI children who were submitted to treatment, three abandoned the follow-up, one of them in the second month and two in the fifth month.

The agreement between the three tests was 83.1% (49/59) for the known exposure group in the first evaluation and 88.1% (37/42) for the control group (Kappa TST vs QFT-IT=0,807, TST vs T-SPOT.TB= 0,798 and QFT-IT vs T-SPOT.TB=0,888).

In the known exposure group, TST was positive in 61% (36/59) children, 34 of them in the first evaluation and 2/19 in the second series of tests, with an increment of 10.5% with a 95% Confidence Interval (95% CI) of 0.0-24.3.

With respect to IGRAs, two indeterminate results for the T-SPOT.TB in the first evaluation were excluded from the analyses.

The T-SPOT.*TB* was positive in 4 of the 25 children (16%) who had negative TST in the first evaluation; therefore, T-SPOT.*TB* added LTBI diagnosis to 16% (95% CI, 1.6-30.4) of cases. The QFT-IT was positive in 3/25 children with negative TST, so that it added LTBI diagnosis to 12% (95% CI, 0.0-24.7) of cases.

When both tests were associated to TST, they added 4 diagnoses of LTBI among the 25 children with negative TST or 16% (95% CI, 1.6-30.4).

Considering 24 children with negative T-SPOT.*TB*, there were 2 positive QFT-IT (8.3%; 95% CI, 0.0-19.4); among the 24 negative QFT-IT, 2 were positive T-SPOT.*TB* (8.3%; 95% CI, 0.0-19.4).

A univariate logistic regression analysis was performed to assess risk factors associated with the diagnosis of LTBI. Results indicated that a positive (versus negative) diagnosis of LTBI was associated with: bacilliferous index case ($p < 0.001$), length of disease in index case ($p < 0.001$), length of exposure to the index case ($p < 0.001$), living in the same house ($p < 0.001$) and sleeping in the same room of index case ($p < 0.001$). Age ($p = 0.688$) and gender ($p = 0.561$) were not statistically associated with LTBI diagnosis.

Significant variables were then evaluated in the multivariate logistic regression model. Results from this assessment indicated that exposure to an adult case of active pulmonary tuberculosis (OR: 10.77; 95% CI, 3.11-37.29) and sleeping in the same room (OR: 7.06; 95% CI, 1.76-28.24) were the factors associated to diagnosis of LTBI.

Regarding the evolution of the test after treatment, TST had a significant incremental value of 1.8mm ($p = 0.0021$; 95%CI, 0.289-3.310) in the 40 children who could be assessed after treatment. Only one adolescent was negative and became positive after the treatment, suggesting that this incremental value did not increase the index of positivity in this sample.

The IGRAs were evaluated in 42 children after treatment, and no significant changes ($p > 0.999$) were observed for QFT-IT or for T-SPOT.*TB* ($p = 0.724$) results. For T-SPOT.*TB*, there was a significant median reduction of spots in panel A (ESAT-6 antigen) of 3.5 spots ($p = 0.010$) with a variation of -123 to +74, and a median reduction of 3 spots ($p = 0.035$) in panel B (CFP-10 antigen), with a variation of -143 to +16.

In sum, the concomitant use of three tests allowed the LTBI diagnosis in 41/59 (69.5%) children exposed to active TB and in 4/42 (9.5%) children without known contact with a TB patient.

In the known exposure group, if only TST was employed, LTBI would be diagnosed in 61% of cases (95%CI, 48.6%-73.5%); if only QFT- IT was employed, 59.3% of LTBI cases (95%CI, 46.8%-71.9%) would be diagnosed. If only T-SPOT.*TB* was used, LTBI would be diagnosed in 57.6% of cases (95%CI, 45.0%-70.2%).

Discussion

This is a prospective study conducted exclusively in children and adolescents that presented a high rate of LTBI among those exposed to an adult with active pulmonary TB. No child progressed to active disease during the follow-up. There was a high agreement among results obtained with TST and IGRAs. However, there was an increment in LTBI diagnosis either with TST repetition or with the association of IGRAs to TST. After treatment, no significant change was observed in the results of the three tests, although for the TST there was a variation in the size of induration and for T-SPOT.*TB* there was a decrease in the number of cells producing interferon-gamma following stimulation with two specific antigens for *M. tuberculosis*.

The infection rate of 69.5% was higher than what was reported by other Brazilian studies that evaluated children by TST, with rates between 30% and 58% (Almeida et al., 2001; Caldeira et al., 2004; Maciel et al., 2009). It is important to note that Brazil has nowadays a moderate prevalence of TB (Guimarães et al., 2012), with an incidence rate of tuberculosis of 36.1/100.000 (Ministério da Saúde, 2013). Also, the disease is concentrated in some risk groups such as prison inmates, native indians, homeless people and HIV-infected individuals (Ministério da Saúde, 2013). Therefore it is very important that diagnosis and treatment of latent tuberculosis in children and adolescents are performed to avoid progression from LTBI to TB disease. (Ministério da Saúde, 2011).

Studies that evaluated the risk of tuberculosis infection in countries with high incidence of the disease using other tests combined to TST detected rates of infection among contacts from 24% to 74% (Nakaoka et al., 2006, Okada et al., 2008; Adetifa et al., 2010).

The risk of an exposed individual to become infected is related to the infectiousness of the index case, i.e. the bacterial load eliminated (Almeida et al., 2001; Hill et al., 2006), duration and proximity of contact (Yassin et al., 2013, Almeida et al.,

2001; Hill et al., 2006) and the susceptibility of the exposed person (Morrison et al., 2008; Dheda et al., 2010).

On the other hand, the assessment of the infection rate is also determined by the way the diagnostic investigation is undertaken, namely, on which test is selected (Almeida et al., 2001; Hill et al., 2004; Maciel et al., 2009; Lighter et al., 2009).

For TST, its diagnosis value depends on the cut-off value used to distinguish positive from negative results (III Brazilian Thoracic Association Guidelines on Tuberculosis 2009), on the use of BCG vaccine in the population analysed (Wang et al., 2002; Critselis et al., 2012), on the cross-reactivity with non-tuberculous environmental mycobacteria (NTM) (Andersen et al., 2000; Altet-Gomez et al., 2011), on nutritional status (Pelly et al. 2005) and on immunosuppressive conditions present in contact (Withworth et al., 2013).

The recent reduction of the TST cut-off value in our country increased test sensitivity (Cailleaux-Cezar et al., 2009) and allowed the diagnosis of six children in the present study, who would not be considered infected if the previous cut-off were used. All these six children had also positive IGRAs (QFT-IT and T-SPOT.TB), suggesting that they were really infected.

However, the exclusive use of the TST would prevent the diagnosis of tuberculosis in a three month-old infant who had a TST result of 5 mm but who was treated because the two IGRAs turned positive.

In our country, the repetition of TST in individuals exposed to active tuberculosis is recommended after 6 to 12 weeks when the first result is negative (III Brazilian Thoracic Association Guidelines on Tuberculosis, 2009). In the present study, this procedure detected two cases that would be considered negative otherwise, showing the importance of this recommendation (III Brazilian Thoracic Association Guidelines on Tuberculosis, 2009).

Despite the known difficulties inherent to the tuberculin test - low sensitivity, low specificity, the possibility of errors in the application and reading and the need to return in 72 hours to read the result - the infection rate detected exclusively by this test, in this study was also higher (61% for the treatment group and 7.1% for the control group) than what has been described in the literature (Almeida et al., 2001; Caldeira et al., 2004; Hill et al., 2004; Maciel et al., 2009).

BCG vaccine administered in the neonatal period has been shown to have minimal impact on the specificity of TST, especially after 10 years of vaccination (Farhat

et al., 2006; Sleiman et al., 2007; Wang et al., 2002). A recent study in Spain also concluded that BCG given at the birth does not influence in the outcome of TST after three years of its administration (Piñeiro et al., 2012).

Regarding the presence of nontuberculous mycobacteria interfering with the specificity of TST, the State of São Paulo has a low number of cases reported compared to other regions in Brazil (Wildner, 2011). Therefore, it is unlikely that these infections have affected the response of TST in the present study.

Some studies published in the last decade using interferon-gamma release tests showed that BCG given in childhood might protect against *M. tuberculosis* infection (Soysal et al., 2005; Eisenhut et al., 2009; Eriksen et al., 2010; Basu Roy et al, 2012). In the present study, 98.3% of children had been vaccinated with BCG at birth; despite that, a high rate of LTBI was observed.

No child developed active disease in our study. It is known that desnutrition is one of the factors that contribute to the development of TB disease (Guimarães et al., 2010). Perhaps the good nutritional status of children and adolescents in our sample has contributed to the absence of TB disease: only four children were malnourished and still, had borderline a body mass index Z score of -2.02 to -2.21.

In the absence of a gold standard for the diagnosis of LTBI, interpreting discordant results is a challenge. Factors associated with discordance between tests are the age of the exposed child (Blandinières et al., 2013; Haustein et al., 2009), the presence of BCG (age of administration and number of doses) (Piñeiro et al., 2012; Wang et al., 2002), as well as the necessary period of time required by different tests to turn positive (Lee et al., 2011).

In general, in areas of low and moderate prevalence of tuberculosis, the agreement between the tests results depends on the vaccination status of the participants, being higher in the unvaccinated population and lower in BCG vaccinated (Mendez-Echevarria et al., 2012; Cruz et al. USA, 2011; Tsolia et al. 2010).

The high agreement between tests observed in this study in a population so widely vaccinated suggests that a single dose of BCG at birth does not reduce the specificity of TST (Farhat et al., 2006).

Another factor that may have contributed to the high agreement found could be the prolonged exposure to the index case - more than 30 days in 74.5% of the sample - probably enough to both TST and IGRAs to turn positive. (Lee et al., 2011).

Despite this high agreement, the use of IGRAs contributed to the diagnosis in some cases. The literature suggests that the consecutive use of tests is possible when one desires to increase their sensitivity (Adetifa, 2010; Tsolia et al., 2010; Bamford et al., 2010; Chiappini et al., 2012; Yassin et al., 2013).

On the other hand, only the repetition of TST in six to 12 weeks led to a diagnosis increment. There are no data on the use of this strategy in other countries.

Importantly, the repetition of TST should not be confused with the "PPD booster" strategy (III Thoracic Brazilian Association Guidelines on Tuberculosis, 2009).

In line with the literature (Hill et al., 2006; Okada et al., 2008; Adetifa, 2010; Rutherford et al., 2012), logistic regression analysis showed that children with known exposure to an adult with active pulmonary tuberculosis were 10 times more likely to be infected than those with no known contact with tuberculosis. Furthermore, the closer the contact, the greater this risk, which could increase up to 7 times.

Test results were not modified by treatment, suggesting that there is no advantage in their repetition. However, a **quantitative** variation after treatment was observed both after TST – with a significant increase in response - and after T. SPOT-TB, where there was a significant decrease in the number of interferon-gamma producing cells when stimulated with specific antigens for *M. tuberculosis*.

Previous study using Quantiferon did not show differences pre- and post-treatment among in children treated for latent tuberculosis infection or in the group treated for TB disease (Nenadic et al., 2012).

A decrease in the number interferon-gamma producing cells in T.SPOT-TB does not necessarily indicate a change in immune response, because other cytokines involved were not measured. Thus, further studies with larger numbers of cytokines analyzed should be made in the future.

In the present study we observed a low rate of indeterminate results (4.9%). Contrary to other reports in the literature (Ferrara et al., 2006; Bergamini et al., 2009; Banfield et al., 2012; Thomas et al., 2011;) these results were more frequent for T. SPOT-TB than for the QFT-IT.

In the literature, the frequency of indeterminate results varies significantly between studies and between the IGRAs, with rates of 0 to 17% (Hesseling et al., 2009; Ling et al. 2011). Even higher rates (35%) have been reported in immunocompromised children or in early infancy (Haustein et al., 2009; Ferrara et al., 2006).

This study is limited by its small sample size, as reflected in the wide confidence intervals around effect estimates despite statistically significant results for some outcomes. Another limitation was the inability to collect sputum from all index cases.

On the other hand, the high adherence to the protocol— a product of the follow-up of children performed by the same professional, of the attention dispensed to the family in the Health Unit and of the reimbursement of the cost of transportation to all appointments - allowed the vast majority to pursue all proposed steps of the study. These factors have already been reported previously in our country (Machado Jr. et al., 2009) and also in Tanzania (Nissen et al., 2012).

Conclusion

In our setting, in immunocompetent children and adolescents exposed to an adult with active pulmonary tuberculosis, TST had a similar performance to IGRAs and detected a high rate of LTBI. In the clinical practice, TST seems to be enough for the diagnosis of tuberculosis among exposed individuals. In the immunocompetent population, IGRAs should be indicated only in selected cases, in others words, in patients with strong clinical evidence of tuberculosis disease.

References

- Adetifa IM, Ota MO, Jeffries DJ, Hammond A, Lugos MD, Donkor S et al. Commercial interferon gamma release assays compared to the tuberculin skin test for diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in childhood contacts in the Gambia. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29:439-43.
- Almeida LM, Barbieri MA, Da Paixão AC, Cuevas LE. Use of purified protein derivative to assess the risk of infection in children in close contact with adults with tuberculosis in a population with high Calmette-Guerrin bacillus coverage. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20:1061-5.
- Altet-Gómez N, De Souza-Galvao M, Latorre I, Milà C, Jiménez M A, Solsona J et al. Diagnosing TB infection in children: analysis of discordances using in vitro tests and the tuberculin skin test. *Eur Respir J*. 2011;37(5):1166-1174.
- Amanatidou V, Syridou G, Mavrikou M, Tsoia M. Latent tuberculosis infection in children: diagnostic approaches. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31:1285-94.
- Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty IM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet*. 2000;356(23):1099-1104.

Bakir M, Millington KA, Soysal A, Deeks JJ, Efee S, Aslan Y et al. Prognostic value of a T cell based, interferon- γ biomarker in children with tuberculosis contact. *Ann Intern Med.* 2008;149(11):777-86.

Bamford AR, Crook AM, Clark JE, Nademi Z, Dixon G, Paton JY et al. Comparison of interferon-gamma release assays and tuberculin skin test in predicting active tuberculosis (TB) in children in the UK: a paediatric TB network study. *Arch Dis Child* .2010;95(3):180-6.

Banfield S, Pascoe E, Thambiran A, Aris Siafarikas A, Burgner D. Factors Associated with the Performance of a Blood- Based Interferon- γ Release Assay in Diagnosing Tuberculosis. *Plos One.* 2012;7(6):e38556.

Basu R, Sotgiu G, Altet-Gómez N, Tsolia M, Ezia Ruga E, Velizarova S et al. Identifying Predictors of Interferon- γ Release Assay Results in Pediatric Latent Tuberculosis: A Protective Role of *Bacillus Calmette-Guérin*? A pTB-NET Collaborative Study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012;186(4):378-384.

Bergamini BM, Losi M, Vaienti F, D'Amico R, Meccugni B, Meacci M et al. Performance of commercial blood tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection in children and adolescents. *Pediatrics.* 2009;123(3):e419–24.

Blandinières A, Lauzanne A, Guérin-El Khourouj V, Gourgouillon N, See H, Pédrón B et al. QuantiFERON to diagnose infection by *Mycobacterium tuberculosis*: Performance in infants and older children. *J Infect.* 2013;67(5):391- 98.

Cailleaux-Cezar M, Melo D de A, Xavier GM, de Salles CLG, Melo FCQ, Ruffino-Neto A et al. Tuberculosis incidence among contacts of active pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2009;13(2):190-5.

Caldeira ZMR, Sant'Anna CC, Aidé MA. Tuberculosis contact tracing among children and adolescents, Brazil. *Rev Saude Publica.* 2004;38(3):339–45.

Chiappini E, Accetta G, Bonsignori F, Boddi V, Galli L, Biggeri A, De Martino M. Interferon- γ release assays for the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children: a systematic review and meta-analysis. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2012, 25(3):557-64.

Conde MB, Melo FA, Marques AM, Cardoso NC, Pinheiro VG, Dalcin P de T et al. III Brazilian Thoracic Association Guidelines on tuberculosis. *J Bras Pneumol.* 2009;35(10):1018-48.

Connell TG, Ritz N, Paxton GA, Buttery JP, Curtis N, Ranganathan SC. A three – way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB Gold and T-SPOT-TB in children. *PLoS One.* 2008;3(7):e2624.

Critselis E, Amanatidou V, Syridou G, Spyridis NP, Mavrikou M, Papadopoulos N G et al. The effect of age on Whole Blood Interferon-Gamma release assay response among children investigated for latent tuberculosis infection. *J Pediatr.* 2012;161(4):632-8.

Cruz AT, Geltemeyer AM, Starke JR, Flores JA, Graviss EA, Smith C. Comparing the tuberculin skin test and T-SPOT.TB blood test in children. *Pediatrics*. 2011;127(1): e31–8.

Dheda K, Schwander SK, Zhu B, van Zyl-Smit RN, Zhang Y. The immunology of tuberculosis: from bench to bedside. *Respirology*. 2010;15(3):433-50.

Diel R, Loddenkemper R, Niemann S, Meywald-Walter K, Nienhaus A. Negative and positive predictive value of a whole-blood interferon- γ release assay for developing active tuberculosis: an update. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(1):88-95.

Donald PR, Marais BJ, Barry CE. Age and the epidemiology and pathogenesis of tuberculosis. *Lancet*. 2010;375(9729):1852–4.

Eisenhut M, Paranjothy S, Abubakar I, Bracebridge S, Lilley M, Mulla R et al. BCG vaccination reduces risk of infection with *Mycobacterium tuberculosis* as detected by gamma interferon release assay. *Vaccine*. 2009;27(44):6116-6120.

Eriksen J, Chow JY, Mellis V, Whipp B, Walters S, Abrahamson E et al. Protective effect of BCG vaccination in a nursery outbreak in 2009: time to reconsider the vaccination threshold? *Thorax*. 2010;65(12):1067-71.

Farhat M, Greenaway C, Pai M, Menzies D. False-positive tuberculin skin tests: what is the absolute effect of BCG and non-tuberculous mycobacteria? *Int J Tuberc Lung Dis* 2006;10(11):1192–204.

Ferrara G, Losi M, D'Amico R, Roversi P, Piro R, Meacci M et al. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*: a prospective study. *Lancet*. 2006;367(9519):1328-34.

Guimarães RM, Lobo ADP, Siqueira EA, Franco T, Borges F, Cristina S, Melo C. Tuberculose, HIV e pobreza: tendência temporal no Brasil, Américas e mundo. *J Bras Pneumol*. 2012;38(4):511-517.

Haustein T, Ridout DA, Hartley JC, Thaker U, Shingadia D, Klein NJ et al. The likelihood of an indeterminate test result from a whole-blood interferon-gamma release assay for the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children correlates with age and immune status. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28(8):669-73.

Hesseling AC, Mandalakas AM, Kirchner HL, Chegou NN, Marais BJ, Stanley K et al. Highly discordant T cell responses in individuals with recent exposure to household tuberculosis. *Thorax*. 2009;64(10):840-6.

Hill PC, Brookes RH, Fox A, Fielding K, Jeffries DJ, Jackson-Sillah D, et al. Large-scale evaluation of enzyme-linked immunospot assay and skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection against a gradient of exposure in The Gambia. *Clin Infect Dis*. 2004;38(7):966–73.

Hill PC, Brookes RH, Adetifa IM, Fox A, Jackson-Sillah D, Lugos MD et al. Comparison of enzyme-linked immunospot assay and tuberculin skin test in healthy children exposed to *Mycobacterium tuberculosis*. *Pediatrics*. 2006;117(5):1542-8.

Hill PC, Jackson-Sillah DJ, Fox A, Brookes RH, de Jong BC, Lugos MD et al. Incidence of tuberculosis and the predictive value of ELISPOT and Mantoux tests in Gambian case contacts. *PLoS One*. 2008;3(1):e1379.

Kampmann B, Wittaker E, Williams A, Walters S, Gordon A, Martinez-Alier N et al. Interferon- γ release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test. *Eur Respir J* 2009;33(6):1374-1382.

Lalvani A, Pathan AA, McShane H, Wilkinson RJ, Latif M, Conlon CP et al.. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Am J Respir Critical Care Med*. 2001;163(4):824–8.

Lalvani A. Diagnosing tuberculosis infection in the 21st century: new tools to tackle an old enemy. *Chest*.2007;131(6):1898-906.

Lalvani A, Pareek M. A 100 year update on diagnosis of tuberculosis infection. *Br Med Bull*. 2010;93:69-84.

Lee SW, Oh DK, Lee SH, Kang HY, Lee C-T, Yim J-J. Time interval to conversion of interferon- γ release assay after exposure to tuberculosis. *Eur Respir J*. 2011;37:1447–1452.

Lighter J, Rigaud M, Eduardo R, Peng CH, Pollack H. Latent tuberculosis diagnosis in children by using the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test. *Pediatrics*. 2009;123(1):30-7.

Ling DI, Zwerling AA, Steingart KR, Pai M. Immune-based diagnostics for TB in children: what is the evidence? *Paediatr Respir Rev*. 2011;12:9-15.

Machado Jr A, Emodi K, Takenami I, Finkmoore BC, Barbosa T, Carvalho J et al. Analysis of discordance between the tuberculin skin test and the interferon-gamma release assay. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2009;13(4):446-453.

Maciel EL, Vieira LW, Molina LP, Alves R, Prado TN, Dietze R. Juvenile household contacts aged 15 or younger of patients with pulmonary TB in the greater metropolitan area of Vitória, Brazil: a cohort study. *J Bras Pneumol* 2009;35(4):359-66.

Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS, Hesselning AC, Obihara CC, Starke JJ et al. The natural history of childhood intra-thoracic tuberculosis: a critical review of literature from the pre-chemotherapy era. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2004;8(4):392–402.

Méndez-Echevarría A, González-Muñoz M, Mellado MJ, Baquero-Artigao F, Blázquez D, Penín M, Pérez E. Interferon- γ release assay for the diagnosis of tuberculosis in children. *Arch Dis Child*. 2012;97(6):514–6.

Menzies D. Interpretation of Repeated Tuberculin Tests. Boosting, Conversion, and Reversion. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159:15–21.

Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de controle da Tuberculose. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2010. 185 p.

Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2011. 284 p.

Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde. Tuberculose: alinhada com o social, afinada com a tecnologia. Bol Epidemiol [Internet]. 2013[citado 2013 jul 29].44:1-6.Disponívelem: <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/texto/10231/783/boletim-epidemiologico-tuberculose-2013.html>

Morrison J, Pai M, Hopewell PC. Tuberculosis and latent tuberculosis infection in close contacts of people with pulmonary tuberculosis in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2008;8(6):359–68.

Nakaoka H, Lawson L, Squire SB, Coulter B, Ravn P, Brock I et al. Risk for tuberculosis among Children. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(9):1383-8.

Nenadić N, Kirin BK, Letoja IZ, Plavec D, Topić RZ, Dodig S. Serial interferon- γ release assay in children with latent tuberculosis infection and children with tuberculosis. *Pediatric Pulmonol*. 2012;47(4):401–8.

Nicol MP, Davies M-A, Wood K, Hatherill M, Workman L, Hawkridge A et al. Comparison of T-SPOT.TB assay and tuberculin skin test for the evaluation of young children at high risk for tuberculosis in a community setting. *Pediatrics*. 2009;123(1):38–43.

Nissen TN, Rose MV, Kimaro G, Bygbjerg IC, Mfinanga SG, Ravn P. Challenges of loss to follow-up in tuberculosis research. *PloS one*. 2012;7(7):e40183.

Okada K, Mao TE, Mori T, Miura T, Sugiyama T, Yoshiyama T et al. Performance of an interferon-gamma release assay for diagnosing latent tuberculosis infection in children. *Epidemiol Infect*. 2008;136(9):1179-87.

Pedrozo C, Sant'Anna CC, March MFBP, Lucena SC. Eficácia do sistema de pontuação, preconizado pelo Ministério da Saúde, para o diagnóstico de tuberculose pulmonar em crianças e adolescentes infectados ou não pelo HIV. *J Bras Pneumol*, 2010;36(1):92–98.

Pelly TF, Santillan CF, Gilman RH, Cabrera LZ, Garcia E, Vidal C et al. Tuberculosis skin testing, anergy and protein malnutrition in Peru. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2005;9(9): 977–984.

Piñeiro R, Mellado MJ, Cilleruelo MJ, García-Ascaso M, Medina-Claros A, García-Hortelano M. Tuberculin skin test in bacille Calmette-Guérin-vaccinated children: how should we interpret the results? *Eur J Pediatr*. 2012;171(11):1625-32.

Rutherford ME, Nataprawira M, Yulita I, Apriani L, Maharani W, van Crevel R, Alisjahbana B. QuantiFERON®-TB Gold In-Tube assay vs. tuberculin skin test in Indonesian children living with a tuberculosis case. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2012;16(4):496–502.

Singh M, Saini AG, Anil N, Aggarwal A. Latent tuberculosis in children: diagnosis and management. *Indian J Pediatr*. 2011;78(4):464–8.

Sleiman R, Al-Tannir M, Dakdouki G, Ziade F, Assi NA, Rajab M. Interpretation of the tuberculin skin test in bacille Calmette-Guérin vaccinated and nonvaccinated school children. *Pediatr Infect Dis J*. 2007;26(2):134–8.

Smieja MJ, Marchetti CA, Cook DJ, Smaill FM. Isoniazida para a prevenção de tuberculose em pessoas não infectadas pelo HIV (Revisão Cochrane). *Cochrane Database Syst Rev*. 2000; (2): CD001363.

Soysal A, Millington KA, Bakir M, Dosanjh D, Aslan Y, Deeks JJ et al. Effect of BCG vaccination on risk of Mycobacterium tuberculosis infection in children with household tuberculosis contact: a prospective community-based study. *Lancet*. 2005;366(9495):1443-51.

Thomas B, Pugalenth A, Patel H, Woltmann G, Bankart J, Hoskyns W. Concordance between tuberculin skin test and interferon- γ assay and interferon- γ response to mitogen in pediatric tuberculosis contacts. *Pediatr Pulmonol*. 2011;46 (12):1225-32.

Tsolia MN, Mavikrou M, Critselis E, Papadopoulos NG, Makriniotti H, Spyridis NP et al., A. Whole blood interferon- γ release assay is a useful tool for the diagnosis of tuberculosis infection particularly among bacilli Calmette Guérin- vaccinated children. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29(12):1137-40.

Tsouris SJ, Coetzee D, Toro PL, Austin J, Stein Z, El-Sadr W. Sensitivity analysis and potential uses of a novel Gamma Interferon release assay for diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol*. 2006;44(8):2844-50.

Vanden Driessche K, Persson A, Marais BJ, Fink PJ, Urdahl KB. Immune vulnerability of infants to tuberculosis. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013:781320. doi: 10.1155/2013/781320. Epub 2013 May 13

Yassin MA, Petrucci R, Garie KT, Harper G, Teshome A, Arbide I et al. Use of tuberculin skin test, IFN- γ release assays and IFN- γ -induced protein-10 to identify children with TB infection. *Eur Respir J*. 2013;41(3):644-8.

Wang L, Turner MO, Elwood RK, Schulzer M, FitzGerald JM. A meta-analysis of the effect of Bacille Calmette Guérin vaccination on tuberculin skin test measurements. *Thorax*. 2002;57:804-809.

Whitworth HS, Scott M, Connell DW, Dongés B, Lalvani, A. IGRAs - The gateway to T cell based TB diagnosis. *Pediatric Pulmonol*. 2013;61(1):52– 62.

Wildner LM, Nogueira C L, Souza S. Micobactérias:epidemiologia e diagnostico.Rev Patol Trop. 2011;40(3):207–229.

World Health Organization, WHO Anthro Plus [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2007 [cited 2013 Ago 19]. Avaliable from:
www.who.int/growthref/tools/en/

World Healt Organization. WHO Anthro [Internet]. Version 3.2.2 Geneva: World Health Organization; 2011 Jan [cited 2013 Ago 19]. Avaliable from:
www.who.int/childgrowth/software/en/

Figure1.

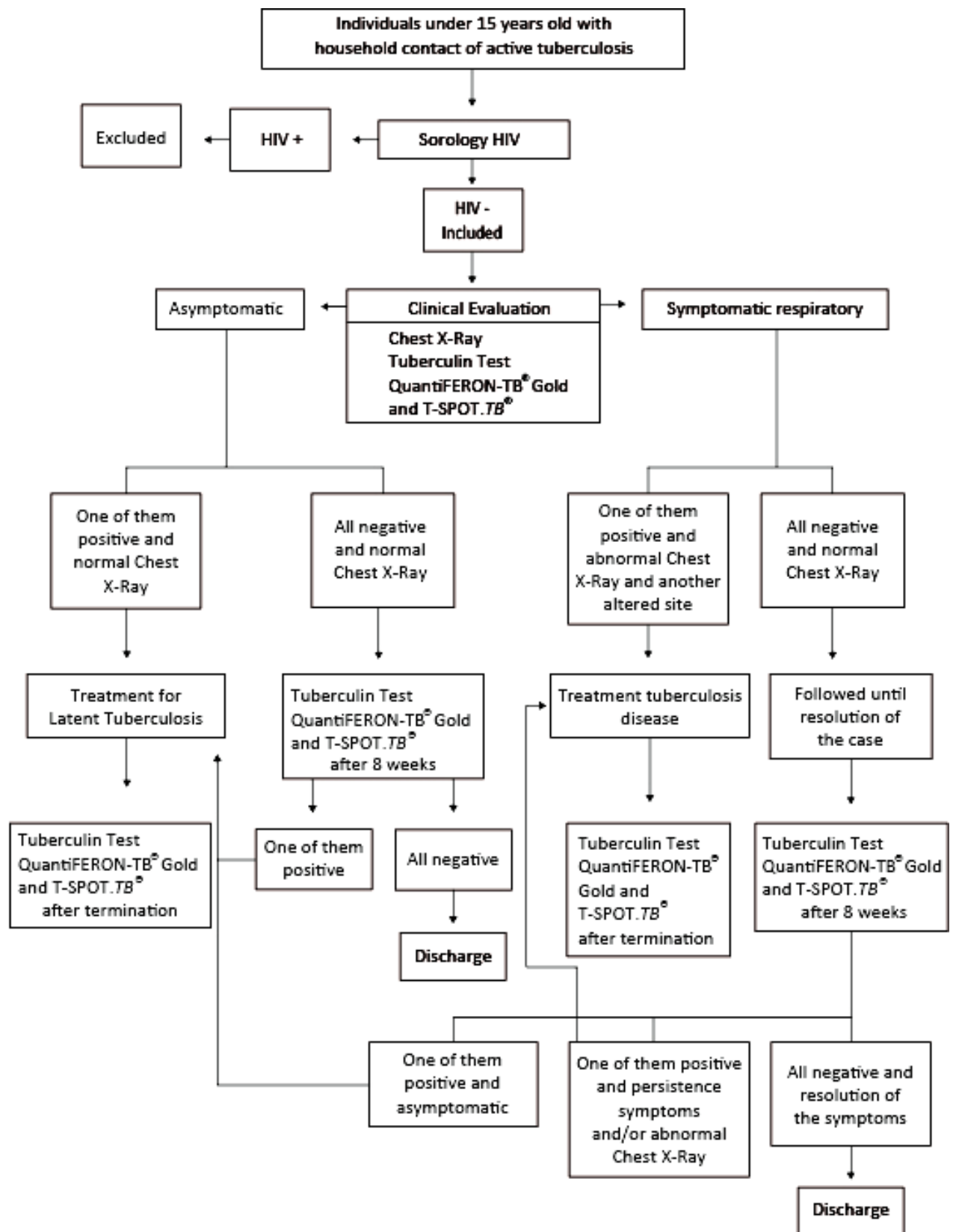


Table 1. Characteristics of children and adolescents from known exposure group and control group.

Parameter	Known exposure group (n=59)	Control group (n=42)	p value
Median age in years (Q1-Q3)	5.3 (3.2-10.5)	7.3 (5.4-10.5)	0.167**
Female gender (%)	31/59 (52.5%)	24/42 (57.1%)	0.799**
Kinship	Son: 22/59 (37.3%) Grandson: 12/59 (20.3%) Nephew: 15/59 (25.4%) Stepson: 2/59 (3.4%) Brother: 2/59 (3.4%) Cousin: 3/59 (5.1%) Shelter home contact: 3/59 (5.1%)	Son: 38/42 (90.5%) Grandson: 1/42 (2.4%) Nephew: 3/42 (7.%)	Not applicable
Exposure period	≤30 days: 15/59 (25.4%) 31 to 60 days: 15/59 (25.4%) 61 to 90 days: 14/59 (23.7%) ≥ 91 days: 15/59 (25.4%)	0/42 (0%)	Not applicable
Nutritional assessment	Eutrophic: 44/59 (74.6%) Overweight risk: 4/59 (6.8%) Overweight: 5/59 (8.5%) Obesity: 2/59 (3.4%) Slimness: 4/59 (6.8%)	Eutrophic: 29/42 (69.0%) Overweight risk: 2/42 (4.8%) Overweight: 6/42 (14.3%) Obesity: 5/42 (11.9%)	0.933***
Relevant clinical findings	Pneumonia responsive to antibiotics: 2/59 (3.4%)	0/42 (0%)	Not applicable
Altered chest radiography at admission	1/59 (1.7%)*	0/42 (0%)	Not applicable

* Interpreted as primary complex, with resolution in the following radiography.

** Mann-Whitney test

***Chi-square test

Table 2. Demographic data of adult index case with active tuberculosis (n=33)

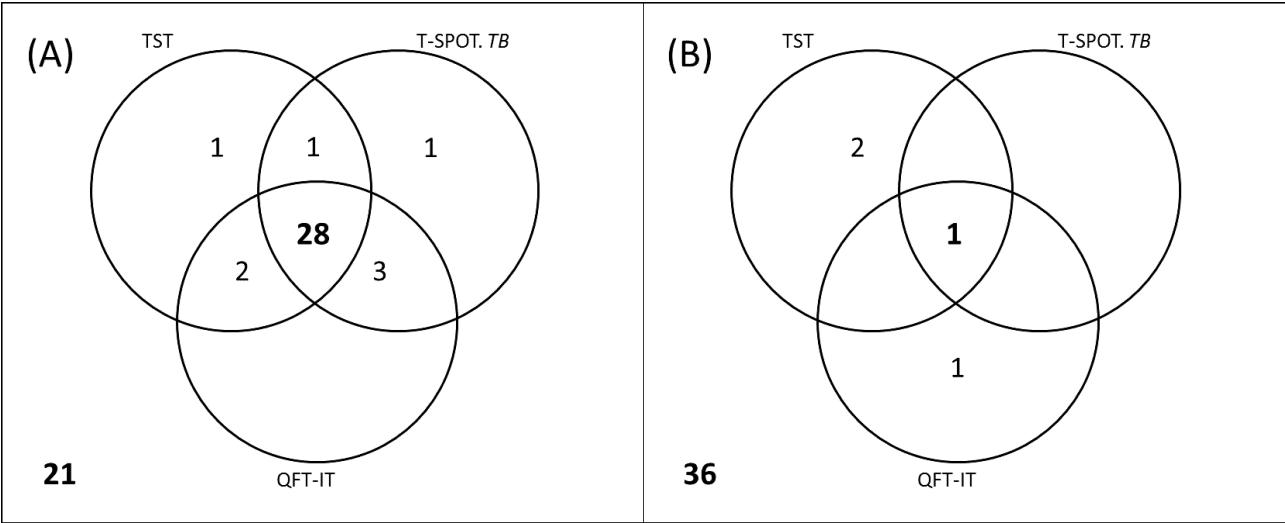
Parameter	Description
Median age (years) (Q1-Q3)	34 (26-40)
Female gender (%)	21/33 (64.0%)
Socioeconomic classification (%)	A: 2/33 (6.1%) B: 10/33 (30.3%) C: 20/33 (60.6%) D: 1/33 (3.0%)
Number of Contacts (%)	One: 13/33 (39.4%) Two: 15/33 (45.5%) Three to five: 5/33 (15.1%)
BAAR sputum (%)	Negative: 3/33 (9.1%)* +: 8/33 (24.2%) ++: 4/33 (12.1%) +++: 6/33 (18.2%) Positive without quantification: 12/33 (36.4%)
Sputum culture for <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex (%)	Done: 16/33 (48.5 %) Positive: 13/16 (81.3%**) Negative: 3/16 (18.7%***) Not performed: 17/33 (51.5%****)

*The 3 smears with negative acid fast bacilli (AFB) had a positive culture result.

** 13 positive culture for *M. tuberculosis* complex

***Despite negative culture, the four were positive for AFB.

**** Two patients did not present sufficient secretion and 14 did not collect it.



Results of three tests	Known exposure (n= 59)	Control group (n=42)
All tests positive	28 (47.4%)	1 (2.4%)
All tests negative	21 (35.6%)	36 (85.7%)

Figure 2.

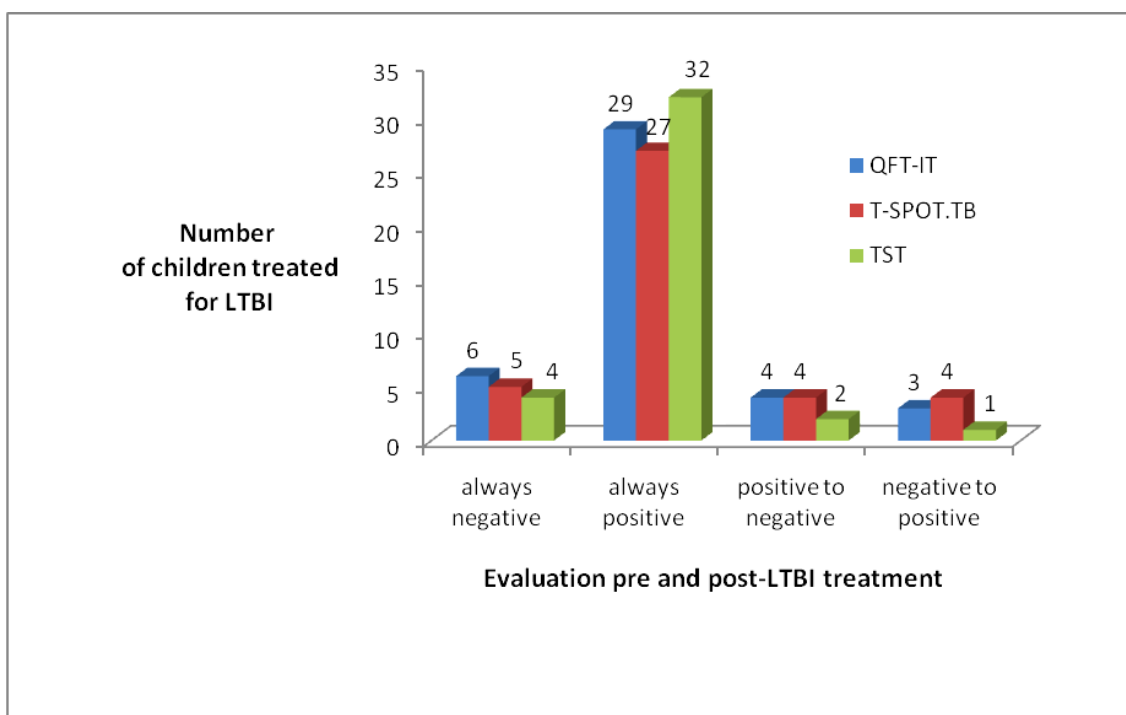


Figure 3.

Table 3. Results of three tests of the known exposure and control group before and after treatment (N=45). QFT- IT and T-SPOT.TB

LTBI	1 st collection			2 nd collection			3 rd collection			Abandon
	TST	T- SPOT.TB	QFT- IT	TST	T- SPOT.TB	QFT- IT	TST	T- SPOT.TB	QFT- IT	
Known exposure group										
1	P	I	N	N	N	P				
2	P	P	P	P	P	P				
3	P	I	P	P	N	N				
4	P	N	P	P	P	P				
5	P	P	P	P	P	P				
6	N	N	N	P	N	N	P	N	N	
7	P	P	P	P	P	P				
8	P	P	P	P	N	N				
9	P	N	P	P	P	P				
10	N	P	P	N	N	P				
11	P	P	P	P	P	P				
12	N	N	N	P	P	P	P	P	P	
13	P	P	P	P	P	P				
14	P	P	P	P	N	P				
15	P	P	P	P	P	P				
16	P	P	P	P	P	P				
17	P	P	P							2 nd month
18	N	N	N	N	P	N	N	P	N	
19	N	P	N	N	P	N				
20	N	P	P	P	P	P				
21	P	P	P	P	P	P				
22	P	P	P	UR	P	P				
23	P	P	P	UR	P	P				
24	P	N	N	P	N	N				
25	P	P	P	P	P	P				
26	P	P	N	P	P	P				
27	P	P	P	P	P	P				
28	P	P	P	P	P	P				
29	P	P	P	P	P	P				
30	P	P	P	P	P	P				
31	P	P	P	P	P	P				
32	P	P	P	P	P	P				
33	P	P	P							5 th month*
34	P	P	P							5 th month*
35	P	P	P	P	P	P				
36	N	P	P	N	P	P				
37	P	P	P	P	P	P				
38	P	P	P	P	P	P				
39	P	P	P	P	P	P				
40	P	P	P	P	N	N				
41	P	P	P	P	P	P				
Control group										
42	P	P	P	P	P	P				
43	P	N	N	N	N	N				
44	N	N	P	N	N	N				
45	P	N	N	P	N	N				

P= positive, N negative, I indeterminate, ND not done

*Abandoned follow up in the 5th month, but came back for clinical evaluation 2 months after and were both well.

Table 4. Logistic regression analyses for the assessment of demographic and clinical characteristics associated with the LTBI diagnosis.

Univariate analysis			
Parameters	LTBI+ (n=45)	LTBI- (n=56)	p value
Gender			0.561
Male	23	25	
Female	22	31	
Age			0.688
≤ 5 years	17	19	
>5years	28	37	
Exposure to TB			<0.001
Yes	41	18	
No	4	38	
Length of exposure			0.001
≤30 days	8	7	
31 to 90 days	19	8	
≥91 days	14	3	
Sleeping			
In the same room	24	3	<0.001
In the same house	41	18	
No exposure	4	38	
Multivariate analysis			
Parameters	OR (95% CI)		p
Contact with active pulmonary tuberculosis	10.77 (3.11-37.29)		<0.001
Sleep in the same room	7.06 (1.76-28.24)		<0.001

5 Considerações Finais

A alta taxa de infecção tuberculosa observada nesse trabalho é provavelmente decorrente do fato do estudo ter sido realizado em condições favoráveis. Para que esse resultado possa ser reproduzido na prática clínica das Unidades Básicas de Saúde, é necessário o seguimento da criança exposta a tuberculose e não só uma avaliação pontual no momento do contato. Além disso, conforme consta das Diretrizes para tuberculose (III Brazilian Thoracic Association Guidelines on Tuberculosis, 2009) deve ser realizada a repetição do teste tuberculínico em prazo adequado nos casos em que ele se mostrar não reator na primeira avaliação. Da mesma forma, é fundamental que haja um treinamento periódico dos profissionais envolvidos na aplicação e leitura do teste tuberculínico. Por fim, mas nem por isso menos importante, é fundamental que essas famílias, muitas vezes pouco estruturadas e com mais de um indivíduo doente, tenham um bom acolhimento nos Serviços de Saúde e possam assim estabelecer um vínculo com os diversos profissionais envolvidos no diagnóstico, tratamento e prevenção da tuberculose.

Na prática clínica, os IGRAs poderiam trazer benefícios adicionais em casos específicos, em especial, em casos clínicos com forte suspeita de tuberculose doença e prova tuberculínica negativa.

Figure Legends

Figure 1- Algorithm of the study.

Figure 2- Agreement and disagreement among the three tests: TST, QFT- IT and T-SPOT.*TB* in the known exposure group (A) and in control group (B) at the first evaluation.

Figure 3- Positivity of the three tests in the known exposure group and control group in the first evaluation.

Anexo 1

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL



Universidade Federal de São Paulo

Comitê de Ética em Pesquisa

Hospital São Paulo

São Paulo, 6 de fevereiro de 2009.
CEP 2121/08

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a) MARIA APARECIDA GADIANI FERRARINI

Co-Investigadores: Maria Isabel de Moraes Pinto (orientadora), Lilly Yin Weckx, Patrícia de Oliveira Viana

Disciplina/Departamento: Pediatria/Infecologia Pediátrica da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: "Risco de tuberculose infecção em crianças com contato domiciliar de adultos com tuberculose pulmonar bacilífera segundo três testes distintos - teste tuberculínico, QuantiFERON e ELISpot".

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Intervenção diagnóstica.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: Risco mínimo, envolvendo coleta de sangue e teste intradérmico.

OBJETIVOS: Avaliar a resposta do teste tuberculínico e dos ensaios de células T em menores de 15 anos de idade com contato domiciliar de tuberculose bacilífera. Avaliar a resposta frente aos mesmos testes em crianças saudáveis menores de 15 anos de idade na ausência de contato conhecido com a tuberculose. Avaliar a concordância entre os testes para o diagnóstico da infecção tuberculosa entre os indivíduos com contato domiciliar de tuberculose bacilífera. Comparar a resposta dos testes das crianças com contato com tuberculose com crianças saudáveis sem contato com a tuberculose..

RESUMO: O estudo será realizado em duas etapas. Na primeira etapa, será feito um estudo transversal, em que serão avaliados dois grupos de indivíduos menores de 15 anos: um com contato domiciliar de adultos não infectados com tuberculose pulmonar bacilífera e outro sem contato domiciliar com tuberculose, ou seja, contato com adulto saudável. Na segunda etapa, participarão indivíduos com contato que se mostrarem infectados pelo M tUberculosis, em que será realizada quimioprofilaxia; para os contatos doentes, será instituído o tratamento da tuberculose seguindo a recomendação do 11 Consenso Brasileiro de Tuberculose. Serão formados grupos a partir dos adultos. O primeiro grupo será constituído pelos indivíduos com contato domiciliar de 30 casos índices de tuberculose bacilífera; o segundo grupo será composto pelos indivíduos com contato domiciliar de 30 adultos saudáveis. O recrutamento dos casos será realizado no Centro de Saúde I Dr Lívio Amato-Vila Mariana. No momento do diagnóstico ou durante a consulta médica, o caso índice será questionado quanto a presença de indivíduos moradores no mesmo domicílio e que sejam menores de 15 anos. Em caso afirmativo, ele e seus contatos serão convidados a participar do estudo. Neste momento, serão coletadas uma amostra de sangue para realização do teste rápido para HIV e uma amostra de escarro para cultura de micobactéria. Será agendada uma consulta médica, realizado teste tuberculínico, sorologia para HIV, testes QuantiFeron-TB Gold e T-Sport.TB, realizado Rx de tórax e avaliação de outros sítios de



Universidade Federal de São Paulo

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

comprometimento extrapulmonar. Os resultados serão analisados de modo a avaliar: o risco de infecção detectado pelos 3 testes quando existe o contato domiciliar com tuberculose bacilífera e quando esse contato não existe; e a evolução dos 3 testes após o término do tratamento ou quimioprofilaxia.

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Atualmente, novos testes laboratoriais apresentam maior sensibilidade e especificidade que o teste tuberculínico e são baseados na produção de interferon gama por células T específicas para antígenos próprios do M tuberculosis. Neste estudo, pretende-se avaliar a resposta do teste tuberculínico e de dois ensaios de células T em menores de 15 anos de idade com contato domiciliar de tuberculose bacilífera e compará-la à resposta frente aos mesmos testes em crianças saudáveis menores de 15 anos de idade na ausência de contato conhecido com a tuberculose.

MATERIAL E MÉTODO: Estão descritos os procedimentos a serem realizados.

TCLE: Apresentado adequadamente.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: FAPESP.

CRONOGRAMA: 48 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: Doutorado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 01/02/10 e 01/02/11.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU e APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

2121/08

Anexo 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Grupo controle)

Risco de tuberculose infecção em crianças com contato domiciliar de adultos com tuberculose pulmonar bacilífera segundo três testes distintos - teste tuberculínico, QuantiFERON e ELISpot

A tuberculose pulmonar é uma doença grave e muito frequente em vários países, inclusive no Brasil. Os doentes adultos podem transmitir a doença através da tosse e espirros para o meio ambiente, sendo que as pessoas que moram na mesma casa apresentam maior risco para infecção e as crianças, quando infectadas, podem apresentar formas graves da doença.

Por isso, toda vez que se faz o diagnóstico de tuberculose pulmonar num adulto que tem exame de escarro positivo, é necessário investigar todas as pessoas que convivem com ele na mesma casa. Baseado nessa investigação, o médico decide quem está doente e deve ser tratado e quem está apenas infectado e deve receber uma medicação para não ficar doente.

Como parte dessa investigação, os indivíduos realizam um teste chamado “teste tuberculínico”. Porém, o resultado desse exame pode ser confundido com a resposta da vacina BCG que é muito usada no nosso país. Além disso, ele também pode ser negativo e a pessoa estar infectada.

Há alguns testes novos que já estão sendo usados em outros países e que não apresentam respostas que se confundem com a vacina BCG. Queremos avaliar dois desses testes para ver se vale a pena utilizá-los no Brasil de modo a facilitar o diagnóstico de tuberculose em crianças e adolescentes até 15 anos de idade.

Nesse projeto, serão avaliados dois grupos de pessoas: um de crianças e adolescentes até 15 anos de idade com contato domiciliar de tuberculose bacilífera e outro de crianças e adolescentes até 15 anos de idade sem contato conhecido com a tuberculose.

Caso você concorde em participar deste estudo, as crianças e adolescentes que moram na sua casa farão parte do grupo controle, isto é, crianças sem contato conhecido com a tuberculose. Serão preenchidos um questionário de avaliação sócio-econômica e uma ficha clínica que se encontram em anexo e deverão ser lidos antes da assinatura deste consentimento. As crianças ou adolescentes que tiverem alteração conhecida das defesas do organismo (imunodeficiência congênita ou adquirida) ou com história anterior de uso de medicações para tuberculose não poderão entrar no estudo.

Para cada criança ou adolescente participante será agendada uma consulta médica em horário e local determinado. Neste dia, além da consulta, será realizado o RX de tórax, o teste tuberculínico que consiste numa injeção intradérmica (dentro da pele) de 0,1 mL de tuberculina (derivado purificado da fração protéica do bacilo) no antebraço esquerdo. Também serão coletados 10mL de sangue periférico por enfermeira treinada para realização de sorologia para HIV, e os testes QuantiFERON e ELISpot (estes dois últimos são os testes para avaliação de infecção pelo bacilo da tuberculose).

Para resultado do teste tuberculínico a criança ou adolescente deve retornar ao serviço após 72 horas da sua aplicação, sendo indispensável o retorno neste dia.

Ressalto que os procedimentos que as crianças e adolescentes serão submetidos são de risco mínimo e o desconforto será da picada da agulha, e a possibilidade de aparecimento de mancha arroxeadas no local.

Quanto ao teste tuberculínico, quando positivo, causará uma endureção avermelhada, um pouco dolorosa no local da aplicação.

As crianças que apresentarem resultados negativos nos três testes (testes tuberculínico, QuantiFERON e ELISpot) no primeiro exame receberão alta médica.

Se algum desses testes for positivo e a criança ou adolescente for considerado infectado pelo bacilo da tuberculose, será acompanhado mensalmente e receberá uma medicação chamada isoniazida por seis meses para diminuir o risco de progressão para a doença.

Se acaso for diagnosticada alguma criança ou adolescente com tuberculose doença, esta será acompanhada mensalmente e tratada com três medicações (isoniazida, rifampicina e pirazinamida) por seis meses.

Tanto as crianças e adolescentes que tomarem isoniazida quanto as que receberem as três medicações, repetirão os três testes no final do acompanhamento médico.

Os dados obtidos nesse trabalho serão analisados em conjunto com outros pacientes e não será divulgada a identidade dos participantes. O sigilo está assegurado durante todo o processo de pesquisa e também na divulgação de resultados em publicações ou eventos científicos.

A investigadora principal é a Dra Maria Aparecida Gadiani Ferrarini, que pode ser localizada na Rua. Loefgreen 1998, V Clementino, São Paulo, telefone-5571-2944.

Qualquer consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa pode ser esclarecida através do contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) na Rua Botucatu, 572, 1º andar, telefones 5576-4564 e 5571-1062 e FAX 5539-7162.

É garantida a liberdade de deixar de participar do estudo a qualquer momento, sem prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

Não haverá compensação financeira relacionada à sua participação ou benefícios diretos para o participante e nem despesas pessoais em qualquer fase do estudo, incluindo consultas e exames.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito do estudo em questão, tendo ficado claro a liberdade de participação ou não, a saída quando quiser e a isenção de lucros ou despesas.

Concordo voluntariamente na participação do menor _____ no estudo.

Assinatura do responsável Data ____/____/____

Assinatura da testemunha Data ____/____/____

Para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável do estudo Data ____/____/____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Grupo de estudo)

Risco de tuberculose infecção em crianças com contato domiciliar de adultos com tuberculose pulmonar bacilífera segundo três testes distintos- teste tuberculínico, QuantiFERON e ELISpot

A tuberculose pulmonar é uma doença grave e muito frequente em vários países, inclusive no Brasil. Os doentes adultos podem transmitir a doença através da tosse e espirros para o meio ambiente, sendo que as pessoas que moram na mesma casa apresentam maior risco para infecção e as crianças, quando infectadas, podem apresentar formas graves da doença.

Por isso, toda vez que se faz o diagnóstico de tuberculose pulmonar num adulto que tem exame de escarro positivo, é necessário investigar todas as pessoas que convivem com ele na mesma casa. Baseado nessa investigação, o médico decide quem está doente e deve ser tratado e quem está apenas infectado e deve receber uma medicação para não ficar doente.

Como parte dessa investigação, os indivíduos realizam um teste chamado “teste tuberculínico”. Porém, o resultado desse exame pode ser confundido com a resposta da vacina BCG que é muito usada no nosso país. Além disso, ele também pode ser negativo e a pessoa estar infectada.

Há alguns testes novos que já estão sendo usados em outros países e que não apresentam respostas que se confundem com a vacina BCG. Queremos avaliar dois desses testes para ver se vale a pena utilizá-los no Brasil de modo a facilitar o diagnóstico de tuberculose em crianças e adolescentes até 15 anos de idade.

Nesse projeto, serão avaliados dois grupos de pessoas: um de crianças e adolescentes até 15 anos de idade com contato domiciliar de tuberculose bacilífera e outro de crianças e adolescentes até 15 anos de idade sem contato conhecido com a tuberculose.

Caso você concorde em participar deste estudo, as crianças e adolescentes que moram na sua casa farão parte do grupo de estudo, isto é, crianças com contato conhecido com a tuberculose. Serão preenchidos um questionário de avaliação sócio-econômica e uma ficha clínica que se encontram em anexo e deverão ser lidos antes da assinatura deste consentimento. As crianças ou adolescentes que tiverem alteração conhecida das defesas do organismo (imunodeficiência congênita ou adquirida) ou com história anterior de uso de medicações para tuberculose não poderão entrar no estudo.

Para cada criança ou adolescente participante será agendada uma consulta médica em horário e local determinado. Neste dia, além da consulta, será realizado o RX de tórax, o teste tuberculínico que consiste numa injeção intradérmica (dentro da pele) de 0,1 mL de tuberculina (derivado purificado da fração protéica do bacilo) no antebraço esquerdo. Também serão coletados 10mL de sangue periférico por enfermeira treinada para realização de sorologia para HIV, e os testes quantiFERON e ELISpot (estes dois últimos são os testes para avaliação de infecção pelo bacilo da tuberculose).

Para resultado do teste tuberculínico a criança ou adolescente deve retornar ao serviço após 72 horas da sua aplicação, sendo indispensável o retorno neste dia.

Ressalto que os procedimentos que as crianças e adolescentes serão submetidos são de risco mínimo e o desconforto será da picada da agulha, e a possibilidade de aparecimento de mancha arroxeadas no local.

Quanto ao teste tuberculínico, quando positivo, causará uma enduração avermelhada, um pouco dolorosa no local da aplicação.

As crianças que apresentarem resultados negativos nos três testes (testes tuberculínico, QuantiFERON e ELISpot) no primeiro exame farão novos testes em 2 meses e, se eles se mantiverem negativos, receberão alta médica.

Se algum desses testes for positivo e a criança ou adolescente for considerado infectado pelo bacilo da tuberculose, será acompanhado mensalmente e receberá uma medicação chamada isoniazida por seis meses para diminuir o risco de progressão para a doença.

Se acaso for diagnosticada alguma criança ou adolescente com tuberculose doença, esta será acompanhada mensalmente e tratada com três medicações (isoniazida, rifampicina e pirazinamida) por seis meses.

Tanto as crianças e adolescentes que tomarem isoniazida quanto as que receberem as três medicações, repetirão os três testes no final do acompanhamento médico.

Os dados obtidos nesse trabalho serão analisados em conjunto com outros pacientes e não será divulgada a identidade dos participantes. O sigilo está assegurado durante todo o processo de pesquisa e também na divulgação de resultados em publicações ou eventos científicos.

A investigadora principal é a Dra Maria Aparecida Gadiani Ferrarini, que pode ser localizada na Rua. Loefgreen 1998, V Clementino, São Paulo, telefone-5571-2944.

Qualquer consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa pode ser esclarecida através do contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) na Rua Botucatu, 572, 1º andar, telefones 5576-4564 e 5571-1062 e FAX 5539-7162.

É garantida a liberdade de deixar de participar do estudo a qualquer momento, sem prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

Não haverá compensação financeira relacionada à sua participação ou benefícios diretos para o participante e nem despesas pessoais em qualquer fase do estudo, incluindo consultas e exames.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito do estudo em questão, tendo ficado claro a liberdade de participação ou não, a saída quando quiser e a isenção de lucros ou despesas.

Concordo voluntariamente na participação do menor

_____ no estudo.

_____ Data ____/____/____
Assinatura do responsável

_____ Data ____/____/____
Assinatura da testemunha

Para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

_____ Data ____/____/____
Assinatura do responsável do estudo

Anexo 3
FICHA DO CASO ÍNDICE

Ficha nº _____

Nome: _____ profissão _____

Endereço: _____

Telefone: _____

UBS de seguimento _____

Data nascimento ____/____/____ sexo F () M ()

Data início dos sintomas: ____/____/____

Manifestações clínicas:

Tosse S () N () () dias

Febre S () N () () dias

Emagrecimento S () N () () dias

Hemoptise S () N () () dias

Sudorese S () N () () dias

Outros _____

Data do diagnóstico ____/____/____

BAAR data ____/____/____ + () ++ () +++ ()

HIV data ____/____/____

Cultura do escarro data ____/____/____

Antibiograma _____

Início do tratamento data ____/____/____

Esquema empregado - Esquema I () IR () II () III () Outros ()

Condições de moradia () cômodos () pessoas

Saneamento básico () S () N

Avaliação sócio econômica da ANAC (critério de classificação econômica -2008)

Nome: _____ RH: _____

ABEP: Critério Brasil 2008: Sistema de Pontos

Posses de Itens	Não tem	Tem			
		1	2	3	4
Televisores a cores	0	1	2	3	4
Videocassete/DVD	0	2	2	2	2
Rádios	0	1	2	3	4
Banheiros	0	4	5	6	7
Automóveis	0	4	7	9	9
Empregadas mensalistas	0	3	4	4	4
Máquina de lavar	0	2	2	2	2
Geladeira	0	4	4	4	4
Freezer*	0	2	2	2	2

(*) independente ou segunda porta da geladeira.

Nomenclatura antiga	Nomenclatura atual	
Analfabeto c/primário incompleto	0	Analfabeto/até 3ª série fundamental
Primário completo	1	4ª série fundamental
Ginasial completo	2	Fundamental completo
Colegial completo	4	Médio completo
Superior completo	8	Superior completo

Classe A1	42 a 46 pontos
Classe A2	35 a 41 pontos
Classe B1	29 a 34 pontos
Classe B2	23 a 28 pontos
Classe C1	18 a 22 pontos
Classe C2	14 a 17 pontos
Classe D	8 a 13 pontos
Classe E	0 a 7 pontos

Total de pontos: _____

Classificação: _____

Renda familiar: _____

Nº adultos : _____

Nº adolescentes (10-19 anos): -----

Nº crianças (0 a 10 anos): -----

Contatos domiciliares menores de 15 anos

1-Nome

idade

Grau de parentesco

Tempo de contato ____ dias ____ semanas

2- Nome _____ idade

Grau de parentesco

Tempo de contato ____ dias ____ semanas ____ meses

3- Nome _____ idade

Grau de parentesco

Tempo de contato ____ dias ____ semanas ____ meses

4- Nome _____ idade

Grau de parentesco

Tempo de contato ____ dias ____ semanas ____ meses

5- Nome _____ idade

Grau de parentesco

Tempo de contato ____ dias ____ semanas ____ meses

6- Nome _____ idade

Grau de parentesco

Tempo de contato ____ dias ____ semanas ____ meses

Anexo 4
FICHA DOS CONTATOS

Ficha do caso índice nº
Criança 1-

Nome _____

Data do nascimento ____/____/____ Sexo M () F ()

Contato de: _____

ficha nº _____

Grau de parentesco _____

Tempo de contato ____ dias ____ meses ____ anos

Grau do contato

Dormir na mesma cama S () N ()

Dormir no mesmo quarto S () N ()

Morar na mesma casa S () N ()

Manifestações clínicas

Febre S () N () () dias

Tosse S () N () () dias

Emagrecimento S () N () () dias

Outras _____

BCG – data ____/____/____ PPD anterior----- mm data----/----/-----

Presença de cicatriz S () N ()

Exame Físico

Peso _____g Estatura _____cm

Estado geral BEG () REG () MEG ()

Adenomegalias S () N ()

Hepatomegalia S () N () () cm

Esplenomegalia S () N () () cm

Alteração Ausculta pulmonar S () N ()

Outros achados

PPD atual data ____/____/____ resultado _____mm

T- SPOT.TB

Data	resultado		
Controle negativo	pontos	controle positivo	pontos
PAINEL A	pontos	PAINEL B	pontos

QFT-IT
