

The challenge of pediatric tuberculosis in face of new diagnostic techniques

O desafio da tuberculose na faixa etária pediátrica frente a novas técnicas diagnósticas

Flavio R. Sztajnbok¹, Neio L. Boechat², Denise C. N. Sztajnbok³,
Samantha Brum Ribeiro⁴, Sheila K. F. Oliveira⁵, Clemax C. Sant'Anna⁶

Resumo

Objetivo: Apresentar uma revisão atualizada sobre os novos métodos para o diagnóstico da tuberculose baseados na produção *in vitro* de interferon-gama (IFN- γ) por células T dos pacientes sob investigação, comparando-os com a tradicional prova tuberculínica.

Fontes dos dados: Revisão de literatura utilizando os bancos de dados MEDLINE e LILACS (2000-2008) utilizando as palavras-chave tuberculose, interferon-gama, quantiFERON, ELISPOT e T-SPOT.TB.

Síntese dos dados: Esses novos testes mostraram-se, de um modo geral, tão ou mais sensíveis e específicos que a prova tuberculínica, tanto em adultos como em crianças e imunossuprimidos, para o diagnóstico da infecção latente e da doença ativa, apresentando vantagens como a menor interferência da vacinação prévia pelo BCG, menor influência de estados anérgicos e melhor acurácia em crianças menores. Nos Estados Unidos, já estão sendo utilizados em substituição à prova tuberculínica, e apesar dos custos ainda elevados, a Organização Mundial de Saúde vai priorizar a sua viabilidade econômica.

Conclusões: Sempre levando em conta a importância da história clínica e epidemiológica, os novos testes baseados na produção de IFN- γ apresentam resultados promissores e deverão ser considerados na investigação de tuberculose em qualquer paciente, mas especialmente nos grupos de risco, como as crianças e os imunossuprimidos.

J Pediatr (Rio J). 2009;85(3):183-193. Tuberculose, interferon-gama, quantiFERON, ELISPOT, crianças, imunossupressão.

Abstract

Objectives: To present an updated review concerning new assays for diagnosing tuberculosis based on *in vitro* interferon-gamma production by host T cells, and compare them with tuberculin skin test.

Sources: A literature review was carried out based on Medline and LILACS databases (2000-2008) searching for the following keywords: tuberculosis, interferon-gamma, quantiFERON, ELISPOT and T-SPOT.TB.

Summary of the findings: These new assays proved to have, in general, equal or superior sensitivity and specificity than the tuberculin skin test not only in adults but also in children and immunosuppressed patients for the diagnosis of both latent tuberculosis infection or active disease, with some advantages such as less cross-reactivity as a result of previous BCG vaccination, less influence of anergy and better accuracy in small children. In the United States, these assays have been used instead of the tuberculin skin test and, although still very expensive, the World Health Organization will be making its economic viability a priority.

Conclusions: Always having in mind the importance of clinical and epidemiological histories, these new assays based on interferon-gamma release present promising results and should be considered in tuberculosis investigation procedures for all patients, however with a special concern in the risk groups (i.e., children and immunosuppressed patients).

J Pediatr (Rio J). 2009;85(3):183-193. Tuberculosis, interferon-gamma, quantiFERON, ELISPOT, children, immunosuppression.

1. Professor assistente, Pediatria, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ. Responsável, Setor de Reumatologia, Núcleo de Estudos da Saúde do Adolescente, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ. Professor adjunto, Reumatologia Pediátrica, Universidade do Grande Rio Prof. José de Souza Herdy (UNIGRANRIO), Rio de Janeiro, RJ.
2. Professor adjunto, Clínica Médica, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ.
3. Professora assistente, Pediatria, UERJ, Rio de Janeiro, RJ.
4. Responsável, Setor de Biologia Molecular, Laboratório Multidisciplinar de Pesquisas, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), UFRJ, Rio de Janeiro, RJ. Mestranda, Clínica Médica, HUCFF-UFRJ, Rio de Janeiro, RJ.
5. Professora associada, Pediatria, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ. Chefe, Serviço de Reumatologia Pediátrica, Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ.
6. Professor associado, Pediatria, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ. Médico, Serviço de Pneumologia Pediátrica, Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ.

Fonte financiadora: Este trabalho teve o apoio financeiro da FAPERJ (processo E26/170.759/2007).

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Como citar este artigo: Sztajnbok FR, Boechat NL, Sztajnbok DC, Ribeiro SB, Oliveira SK, Sant'Anna CC. The challenge of pediatric tuberculosis in face of new diagnostic techniques. *J Pediatr (Rio J)*. 2009;85(3):183-193.

Artigo submetido em 25.08.08, aceito em 17.09.08.

doi: 10.2223/JPED.1893

Introdução

A tuberculose (TB) continua sendo um desafio de saúde pública. Em países em desenvolvimento, as condições sanitárias e socioeconômicas facilitam e predispõem à sua disseminação e, em países desenvolvidos, o ressurgimento da doença coincide com os grandes fluxos migratórios e com o surgimento da epidemia da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), além do problema da TB multirresistente. Estima-se que um terço da população mundial esteja infectada pelo *Mycobacterium tuberculosis* e que, em sua maioria, tal infecção fique latente em indivíduos com seu sistema imunológico competente^{1,2}. A TB latente pode persistir por muitos anos, com risco de evolução para doença ativa em cerca de 10% na população geral. A TB representa importante causa de morbimortalidade, principalmente em pacientes imunossuprimidos, e ainda é considerada a maior causa de óbitos por doença infecciosa em adultos^{3,4}.

Enfermidades que cursam com imunossupressão como a AIDS, doenças difusas do tecido conjuntivo, doenças mieloproliferativas, neoplasias, diabetes e outras condições (desnutrição, idade avançada), assim como o uso de medicações imunossupressoras, podem levar a uma resposta imunológica menos efetiva contra a TB. Haverá, então, menor produção de citocinas, como o interferon-gama (IFN- γ) e o fator de necrose tumoral (TNF- α), que têm importante papel na resposta imunológica contra o *Mycobacterium tuberculosis*⁵⁻⁹ e possível ausência de resposta à prova tuberculínica (PT), dificultando o diagnóstico da enfermidade. Nos pacientes imunossuprimidos, a PT pode apresentar sensibilidade mais baixa quando comparada a pacientes com sistema imunológico íntegro, dificultando e postergando o diagnóstico de TB^{10,11}. Como não há um teste confirmatório para o diagnóstico da TB latente ou da doença ativa sem cultura positiva, a PT ainda é considerada a ferramenta mais adequada. Embora apresente várias limitações, o verdadeiro padrão-ouro para diagnóstico da infecção seria a comprovação da evolução para doença, só possível em estudos longitudinais. O encontro de culturas positivas para o *Mycobacterium tuberculosis* seria o padrão-ouro para o diagnóstico da doença em atividade^{12,13}. Em relação à infecção latente, não há como prever que pacientes evoluirão para a doença em atividade.

Na faixa etária pediátrica, principalmente em crianças menores de 3 anos, a TB é frequentemente mais grave do que em adultos e, comparativamente, ocorre maior porcentagem de acometimento extrapulmonar e formas disseminadas. Amostras de material para cultura em crianças são frequentemente difíceis de serem obtidas, e os resultados muitas vezes são negativos. Há dificuldade para o diagnóstico de certeza, levando a casos não diagnosticados ou diagnosticados erroneamente. A PT parece apresentar baixa sensibilidade na faixa etária pediátrica, e sua negatividade não exclui a doença ativa. A criança pode evoluir para a doença ativa pouco tempo depois da infecção latente e, por isso, o diagnóstico precoce é crucial para a adoção de medidas preventivas¹⁴.

O diagnóstico precoce e preciso da TB representa, por si só, um passo importante, enquanto uma nova vacina que previna realmente a doença não estiver disponível. Várias novas técnicas diagnósticas bacteriológicas e moleculares

têm sido estudadas, como técnicas de PCR (*polymerase chain reaction*) mais sensíveis, testes para detecção microscópica e susceptibilidade a drogas (*Microscopic Observation for Detection and Susceptibility*, MODS) e novos meios de cultura, todos com informações escassas na área pediátrica. Recentemente, testes *in vitro* utilizando sangue total foram desenvolvidos no intuito de auxiliar o diagnóstico da TB latente, mostrando-se bastante promissores em pesquisas que envolvem a infecção tuberculosa latente e sua epidemiologia, assim como na doença ativa^{13,14}. Tais testes baseiam-se na produção de IFN- γ por células T do hospedeiro expostas *in vitro* a antígenos mais específicos para o *Mycobacterium tuberculosis* que o antígeno derivado proteico purificado (*purified protein derivative* - PPD) da PT. São disponíveis comercialmente o QuantiFERON-TB Gold® (Cellestis LTD, Carnegie, Victoria, Austrália) e o T-SPOT.TB® (Oxford Immunotec, Oxford, Reino Unido). O QuantiFERON-TB Gold está disponível em forma de placa, já aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration), ou tubo, ainda não aprovado, e avalia a quantidade de IFN- γ produzida pelas células T do paciente em contato com antígenos específicos pela técnica ELISA (*enzyme linked immunoabsorbent assay*). O T-SPOT.TB, também conhecido como ELISPOT (*enzyme linked immunospot assay*), conta o número de células T produtoras de IFN- γ quando também sensibilizadas com antígenos específicos, já tendo sido aprovado para uso pelas entidades reguladoras europeias, bem como pelo FDA^{11,15-17}. Esses testes apresentam boas sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de TB com vantagens sobre a PT, principalmente nos pacientes com algum grau de imunossupressão¹⁸⁻²¹.

O diagnóstico e o tratamento precoces da infecção tuberculosa, evitando sua evolução para a doença, são desafios a serem conquistados para o controle mundial da TB²². Novos métodos diagnósticos serão bem-vindos, especialmente quando direcionados a facilitar o diagnóstico de TB em grupos especiais, como crianças e pacientes imunossuprimidos. Para o ano de 2015, a OMS espera ter reduzido a prevalência e a taxa de mortalidade da doença para menos de 50% dos valores encontrados em 1990²³.

Epidemiologia da tuberculose no Brasil e no mundo

A TB humana é causada por micobactérias pertencentes ao chamado complexo *Mycobacterium tuberculosis* que inclui *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum* e *Mycobacterium tuberculosis*. A TB latente ou TB infecção pode ser definida como uma síndrome clínica causada pela exposição ao *Mycobacterium tuberculosis* seguida de infecção evidenciada pela presença de PT positiva, mas com ausência de sinais e sintomas clínicos e radiológicos de atividade de doença, já que existe uma resposta imunológica eficaz para controlar o crescimento da micobactéria. O bacilo permanece em estado quiescente no tecido afetado, há redução do metabolismo bacteriano mas nem sempre há erradicação do *Mycobacterium tuberculosis*²⁴. A evolução da infecção para doença ativa parece estar relacionada a alguns fatores de risco como idade (pessoas idosas e crianças) e pacientes com doenças ou condições imunossupressoras (coinfecção pelo HIV, doenças autoimunes, desnutrição, neoplasia, diabetes,

insuficiência renal crônica, dentre outras) ou, ainda, uso de medicações que interfiram na imunidade²⁵⁻²⁸. Na maioria dos casos, a infecção fica latente e o indivíduo se torna um reservatório para futuros casos, criando um grande problema epidemiológico²⁹. Nos EUA, estima-se que haja atualmente entre 9 e 14 milhões de indivíduos com infecção latente³⁰. No mundo, estima-se que cerca de 2 bilhões de pessoas estejam infectadas e, dessas, cerca de 8 milhões desenvolverão a doença e 2 milhões de pessoas morrerão anualmente, sendo que cerca de 100.000 óbitos ocorrerão na faixa etária pediátrica. Cerca de 95% dos casos novos e 98% de mortes ocorrem em países em desenvolvimento, onde o acesso ao sistema de saúde é mais precário e a infecção pelo HIV é mais frequente^{4,24,31}.

Cerca de 50% dos casos de TB registrados nas Américas encontram-se no Brasil e no Peru. O Brasil ocupa o 15º lugar entre os 22 países responsáveis por 80% do total de casos de TB no mundo. Segundo dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan/Ministério da Saúde), há a notificação de cerca de 85.000 casos novos anualmente (coeficiente de incidência de 47/100.000 habitantes), e houve uma média de 6.000 óbitos por ano no período entre 1980 e 2002. Em 2001, o Brasil apresentava uma taxa de mortalidade por TB de 3,07/100.000 habitantes. A média do coeficiente de incidência da doença em nosso país, entre os anos 1990 e 2001, foi de 48 casos novos por 100.000 habitantes, havendo 10 estados com taxas acima da média brasileira. O coeficiente de incidência por 100.000 habitantes em 2001 foi maior no grupo etário de 20 a 39 anos, onde alcançou 98,8, mas, na faixa etária pediátrica, principalmente nos adolescentes, que podem ter um comportamento epidemiológico semelhante aos adultos, este coeficiente não foi baixo (9,7 no grupo etário 0-4 anos; 5,3 no grupo 5-9 anos; 21,8 no grupo 10-19 anos). Ainda segundo dados do Sinan, no ano 2000, 4,2% dos casos notificados de TB ocorreram em idade inferior a 15 anos e 6,8% entre 15 e 19 anos, ou seja, 11% dos casos notificados ocorreram em crianças e adolescentes. No ano de 2005, esses dados foram respectivamente 3,7 e 6%, ou seja, 9,7% dos casos notificados de TB ocorreram na faixa etária pediátrica. Tais dados enfatizam a importância da doença no Brasil em termos de morbimortalidade e reforçam a necessidade do diagnóstico e tratamento corretos e precoces^{4,32}.

Imunologia e patogênese

O controle imunológico da TB inicia-se pela imunidade inata, através de barreiras físicas e pela ação dos macrófagos e células dendríticas. Esses determinam uma resposta celular à micobactéria predominantemente tipo Th1 com aumento da população CD4+ (que induz à produção de IFN- γ) e CD8+, que funciona plenamente após 2 a 6 semanas de infecção²⁴. De modo geral, há diferenças importantes entre adultos e crianças quanto à imunopatogenia da TB. Em crianças, verifica-se deficiência funcional de macrófagos e células dendríticas e um predomínio da resposta celular tipo Th2, com falta de células CD8+ e com a produção de interleucinas 4 e 5 pelas células CD4+^{33,34}. Isso pode ser uma explicação para o fato de que formas disseminadas e meníngeas de

TB sejam proporcionalmente mais frequentes em crianças abaixo de 1 ano de idade (20% contra menos de 1% em crianças mais velhas e adultos)³⁵. Crianças muito jovens estão mais sujeitas ao desenvolvimento de TB doença, devido à imaturidade do sistema imunológico (inato e adaptativo) e pelo tempo prolongado de contato com possíveis cuidadores bacilíferos. O aumento da susceptibilidade à TB nas crianças parece estar ligado a fatores como a diminuição da função dos macrófagos e da produção de algumas citocinas pelos mesmos (IL-10, TGF- β , TNF- α) e à diminuição da função de células dendríticas e da resposta celular CD4+³⁴. Linfócitos maternos normalmente não cruzam a placenta e estão presentes em pouca quantidade no leite materno. Os recém-nascidos e lactentes dependem de sua própria imunidade celular, que tende a amadurecer nos anos seguintes, para agir contra patógenos intracelulares, como no caso da TB^{14,36}.

A transmissão do *Mycobacterium tuberculosis* é fundamentalmente pela via inalatória. As primeiras barreiras físicas e anatômicas são a tosse e o transporte muco-ciliar, que reduzem a chegada dos bacilos aos alvéolos terminais. Após chegando, a micobactéria encontrará mecanismos inatos adicionais de defesa do aparelho respiratório, como defensinas, lectinas, colectinas, lectinas e complemento, que têm várias funções, como ativar a via do complemento, estimular a produção de citocinas e quemoquinas, permeabilizar e danificar a membrana dos germes e aglutinar ou opsonizar bactérias. Caso a micobactéria consiga ultrapassar essas barreiras, vai infectar primariamente os macrófagos e, então, ativá-los.

Os macrófagos ativados vão inibir o crescimento intracelular das micobactérias por mecanismos ainda não bem esclarecidos. Provavelmente ocorre apoptose de macrófagos infectados e produção de citocinas, como o fator de necrose tumoral (TNF- α) e as interleucinas (IL) 12 e 18, que, de alguma forma, impedem a disseminação da bactéria^{24,37,38}. O TNF- α também é secretado por células T e as interleucinas 12 e 18 pelas células dendríticas. A micobactéria apresenta, no entanto, mecanismos de defesa: inibição da maturação do compartimento endossomal do macrófago infectado³⁹; estímulo à produção, pelos macrófagos infectados, de citocinas como o *transforming growth factor-beta* (TGF- β), que diminui a resposta imunológica (inativação de macrófagos, supressão da resposta celular à micobactéria), estimula o crescimento intracelular da bactéria e inibe a produção de TNF- α e IL-12 induzida pela micobactéria^{40,41}. Além disso, macrófagos infectados produzem IL-10, potente citocina anti-inflamatória que diminui a resposta celular, em parte por diminuir a produção de IL-12⁴². A IL-10 pode converter as células dendríticas em células macrófago-like, que têm a capacidade de inibir o crescimento intracelular da micobactéria, mas pouca capacidade de apresentar antígeno⁴³. Outra função da IL-10 é inibir a proliferação de células T CD4+ estimuladas pelo *Mycobacterium tuberculosis*, e a produção de IFN- γ pelas mesmas⁴⁰. Em suma, as citocinas TNF e IL-12 promovem o controle imunológico da infecção, enquanto a IL-10 e o TGF- β inibem (*downregulation*) a resposta inata e adquirida na TB.

As células dendríticas também têm importante papel na imunopatogenia da TB e parecem ser um meio de comu-

nicação importante entre as imunidades inata e adquirida, uma vez que também têm a função de célula apresentadora de antígeno. Sua ativação, inicialmente, determina maior eficiência na fagocitose e macropinocitose na periferia, processamento do antígeno e exposição na sua superfície, culminado na ativação potente da resposta celular dirigida à micobactéria. Após essas etapas, há migração para os linfonodos, onde as células dendríticas perdem a capacidade fagocitária, mas tornam-se potentes células apresentadoras de antígeno capazes de estimular a imunidade celular prolongadamente³⁴. As células dendríticas localizadas no epitélio do aparelho respiratório e nas regiões interseptais dos pulmões são essenciais na manutenção da homeostase imunológica local. Aí existe a necessidade de manutenção de um *status* não-inflamatório, apesar da constante chegada de antígenos novos nesse local. As células dendríticas podem predispor a uma resposta celular Th1 ou Th2 pela secreção de IL-12 ou IL-10, respectivamente. Fisiologicamente, são responsáveis pelo predomínio da resposta Th2 nos pulmões, constantemente alvos de novos antígenos^{34,44}. Uma vez infectadas pela micobactéria, as células dendríticas produzem principalmente IL-12 e TNF- α , ambos muito importantes no controle da resposta imunológica na TB⁴². Assim, crianças muito jovens apresentam função de células dendríticas diminuída em relação a adultos, propiciando menor estímulo à resposta imunológica celular e a maior susceptibilidade à TB⁴⁵.

É controverso o papel da imunidade humoral na resposta imunológica na TB, embora crianças e adultos com TB usualmente apresentem hipergamaglobulinemia³⁴. Alguns estudos mostram que anticorpos específicos não proporcionam proteção adequada⁴⁶. Outros mostram que células B podem aumentar a proteção contra a micobactéria independentemente da produção de anticorpos, ou seja, tais células poderiam funcionar como apresentadoras de antígeno⁴⁷. Essa proteção poderia ser ratificada pela observação de que existe relação entre níveis mais altos de anticorpos com melhor prognóstico⁴⁸, porém Sant'Anna et al.⁴⁹ encontraram, em nosso meio, valores mais elevados de anticorpos correlacionando-se com maior gravidade da doença. Crianças com TB, no entanto, tendem a apresentar títulos menores que os adultos. Tais títulos tendem a aumentar proporcionalmente à idade e duração da doença, refletindo a maturação do sistema imunológico e a exposição prolongada à micobactéria^{50,51}.

O TNF- α tem papel importante na resposta imunológica ao *Mycobacterium tuberculosis* e na imunopatologia da doença⁸. Trata-se de uma citocina pró-inflamatória produzida por macrófagos ativadas em resposta a vários estímulos, como lipopolissacarídeos e infecções virais e bacterianas⁵². O TNF- α também pode ser expresso por células T ativadas, células B, células NK (*natural killer*) e algumas células tumorais. Pode existir sob duas formas: solúvel e transmembrana. Suas principais ações são: atividades antitumoral e viral; mediação do choque e caquexia; e estímulo a apoptose, principalmente de macrófagos não mais eficientes, privando a micobactéria de um local de multiplicação⁸. O TNF, nas infecções micobacterianas em modelos animais, parece aumentar a capacidade dos macrófagos em fagocitar e matar os agentes agressores, além de induzir à formação do granuloma, que

limita a disseminação da micobactéria, gerando uma resposta imunológica eficaz^{8,53,54}. Assim, principalmente o TNF- α solúvel tem importante papel na coordenação e contenção da infecção micobacteriana, especialmente a nível pulmonar, já que o granuloma controla o crescimento e disseminação da micobactéria, limitando o dano tecidual⁸. O TNF- α parece também aumentar a apoptose dos neutrófilos locais e diminuir o dano tecidual inflamatório. Por inferência, o uso de agentes anti-TNF- α resultará no acúmulo dessas células, em inflamação persistente e dano mais grave⁵⁵. A apoptose de macrófagos infectados pela micobactéria, mediada pela ação do TNF- α , é uma característica da resposta normal de formação do granuloma na TB^{56,57}. Por outro lado, o excesso de TNF- α parece estar associado a reações necrotizantes caseosas. Clinicamente, causa inflamação sistêmica, suores noturnos e caquexia, condizente com sua denominação prévia, caquexina⁸. Assim, o uso de medicações que interfiram com o TNF- α poderia aumentar a incidência de infecções nas quais a formação de granulomas tenha importante papel na sua patogenia, como a TB e micoses profundas^{8,58,59}.

A tuberculose em crianças e em indivíduos imunossuprimidos

Para a investigação diagnóstica da TB latente ou doença ativa, utilizam-se dados epidemiológicos, história, exame físico e exames complementares. Crianças e adolescentes representam um desafio maior, pois apresentam sinais e sintomas da TB mais inespecíficos, culturas para micobactérias mais frequentemente negativas e maior risco de evolução de infecção para doença em relação aos adultos^{33,34}. A TB nessa faixa etária é considerada um evento sentinela, refletindo infecção recente de alguma fonte comunitária, já que crianças raramente são fontes primárias de infecção. Caso a criança não desenvolva a doença, poderá, no futuro, passar de infecção latente para doença³³. A infecção latente pode persistir por muitos anos com risco de evolução para doença de cerca de 10% na população geral⁸. Na faixa etária pediátrica, pode chegar a 43% em crianças menores de 1 ano de idade, 24% naquelas com idade entre 1 e 5 anos e 15% nos adolescentes, quando não tratados nos 2 primeiros anos após a infecção^{35,60}. Um dos principais fatores associados à não-evolução para a doença parece ser a produção do IFN- γ pelas células T do hospedeiro, que se encontra diminuída nas crianças menores⁶¹⁻⁶⁴.

Certas condições e enfermidades que cursam com imunossupressão e uso de medicações imunossupressoras podem levar à resposta imunológica pouco efetiva e, com isso, predispor ao maior risco de infecções oportunistas e não-oportunistas^{25-27,59,65-69}. O desenvolvimento da TB na população imunossuprimida envolve várias considerações: formas atípicas dificultando o diagnóstico, necessidade de tratamentos mais prolongados, possibilidade de interação medicamentosa do tratamento da TB com a terapia da doença de base, efeitos adversos da terapia antituberculosa associados à doença de base e, ainda, a possibilidade de transmissão da infecção para outros pacientes imunossuprimidos que frequentam o mesmo serviço de saúde. Considera-se que uma dose de prednisona superior a 15 mg/dia por período

superior a 2-4 semanas já determina risco aumentado para o desenvolvimento de TB^{69,70}. A identificação dos portadores de infecção nesse contexto pode ser difícil pelo fato de tais pacientes serem assintomáticos e pelas limitações dos métodos diagnósticos disponíveis.

O teste ideal para diagnóstico de TB latente deveria ter altas sensibilidade e especificidade, independentemente de história prévia de vacinação com BCG e infecção por outras micobactérias. A PT, que vem sendo por quase um século o método utilizado como padrão-ouro na identificação desses pacientes, é um teste *in vivo* que avalia a reação de hipersensibilidade cutânea tardia, utilizando um PPD como antígeno. O PPD consiste em uma mistura heterogênea de proteínas, o que dificulta a diferenciação entre infecção por *Mycobacterium tuberculosis* e outras micobactérias^{34,68}. A PT apresenta várias limitações: necessidade de comparecimento ao serviço de saúde duas vezes; presença de resultados falso-positivos associados à vacinação prévia com BCG (diminuição da especificidade), à ocorrência de efeito *booster* (a repetição da PT pode levar à reação anamnésica, com recrutamento de hipersensibilidade já pré-existente) ou, ainda, pelo contato prévio com outras micobactérias; presença de resultados falso-negativos (doentes graves, inclusive TB doença, e imunossuprimidos^{6,12,55}); e erros de realização e interpretação do teste^{17,68,71-74}. A PT teria um bom valor preditivo na evolução da infecção para doença ativa, mas em populações com baixa incidência de TB parece ter valor preditivo menor que 50%^{69,75,76}. Em países onde a incidência de TB é alta, a vacinação com BCG ao nascimento não apresentará resultados falso-positivos na interpretação da PT após alguns anos^{77,78}. Como a PT não possui controle positivo interno, é muito difícil distinguir entre os resultados verdadeiramente negativos daqueles falso-negativos. Quanto mais precoce a PT for realizada em pacientes com doença imunossupressora, menor o risco de resultado falso-negativo por anergia associada à doença de base. Assim, podem estar ocorrendo situações em que pacientes com risco não estejam sendo diagnosticados e tratados e outras em que possam estar recebendo tratamento desnecessário por erro de diagnóstico. A presença de positividade da PT pode indicar infecção recente, mesmo assintomática, ou infecção passada, passível de reativação^{8,29,34,79}. Em pacientes com alto risco de desenvolver TB ativa se estiverem infectados (infecção pelo HIV, contactantes recentes de caso de TB, imunossuprimidos), o ponto de corte da PT será 5 mm para indicação de quimioprofilaxia (ATS e Ministério da Saúde do Brasil)^{69,80}.

Agentes biológicos que atuam sobre o TNF- α (agentes antiTNF- α) foram inicialmente indicados para o tratamento da artrite reumatoide. Sua utilização já se tornou frequente também para outras doenças que necessitam imunossupressão. Vários estudos vêm abordando a incidência de TB nas doenças reumáticas, e o papel desses medicamentos e outros agentes imunossupressores na reativação da TB latente. Alguns estudos sugerem que doses baixas de corticosteroides e agentes citotóxicos utilizados na artrite reumatoide não aumentam a incidência de TB nesse grupo de pacientes^{69,81,82}. Yamada et al.⁶⁵ verificaram, no entanto, risco aumentado para TB em japoneses em tratamento para

artrite reumatoide antes da introdução de agentes antiTNF- α . Essa mesma situação foi relatada na Suécia⁸³ e Espanha⁸⁴, mas, nos EUA, Wolfe et al.⁸⁵ mostraram que a incidência de TB não aumentou com a imunossupressão convencional, talvez devido à baixa prevalência da TB nesse país. As informações disponíveis atualmente sugerem que tal classe de drogas aumenta o risco para TB e que a maioria dos casos resulte de reativação de infecção prévia. Desconhece-se a contribuição de infecções recentes para tal fenômeno⁸. Haveria necessidade de que pacientes que irão iniciar terapia com agentes biológicos, especialmente os agentes antiTNF- α , sejam submetidos previamente à investigação de TB, latente ou doença^{10,65,76}. Por outro lado, Keane & Bresnihan¹² não encontraram evidências na literatura sobre a associação de TB com o uso de outros agentes biológicos já de uso corrente como o rituximabe, abatacepte e anakinra. Caso a doença ativa seja excluída em pacientes com PT positiva, a terapia com isoniazida por 9 meses está preconizada como profilaxia da evolução da infecção latente para doença. Nesse caso, o início da terapia com o agente antiTNF- α deverá ser postergado por pelo menos 1 a 2 meses⁸. Admite-se que diminuição da ação TNF- α leve à resposta imune anormal mesmo a um pequeno número de bacilos, gerando importante repercussão clinicopatológica⁷⁰.

Métodos diagnósticos baseados na produção de interferon-gama

Recentemente, testes *in vitro* utilizando sangue total foram desenvolvidos no intuito de auxiliar o diagnóstico de TB. Tais testes são conhecidos como IGRAs (*interferon-gamma release assays*) porque avaliam a produção dessa citocina por células previamente sensibilizadas com agentes específicos. Em maio de 2005, foi aprovado pelo FDA o teste QuantiFERON[®]-TB Gold (QFT-G), para diagnóstico da infecção latente ou doença causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* (65). O QFT-G utiliza o método ELISA para medir a produção de IFN- γ pelas células T de uma amostra de sangue total⁶⁸. Outro teste de uso corrente, o ELISPOT (comercialmente disponível como T-SPOT.TB[®], Oxford Immunotec, Abingdon, Reino Unido) utiliza a técnica de ELISPOT para avaliar o número de células mononucleares periféricas que produzem IFN- γ utilizando-se lentes de aumento ou um leitor próprio^{8,68,86}. O ELISPOT, de uso corrente na Europa, foi aprovado para uso nos EUA pelo FDA em final de julho de 2008. A positividade desses testes deve levar à investigação para determinar se existe TB doença antes de se considerar como TB infecção⁸⁷.

Tanto o QFT-G como o ELISPOT se baseiam na produção de IFN- γ produzida por linfócitos T previamente sensibilizados após incubação com peptídeos sintéticos simulando proteínas das micobactérias, como o *early secretory antigenic target 6* (ESAT-6) e o *culture filtrate protein 10* (CFP-10). Mais recentemente, novos antígenos têm sido incorporados aos testes no intuito de aumentar a sensibilidade. O antígeno TB7.7 foi incorporado ao novo QuantiFERON-TB Gold In-Tube (com introdução do sangue do paciente diretamente em tubo a vácuo com antígenos prontos pra incubação)^{15,68} e o antígeno Rv3879c ao ELISpot^{plus}¹⁶. Tais proteínas, presentes no PPD e secretadas pelo *Mycobacterium tuberculosis* e por

cepas patogênicas do *Mycobacterium bovis*, estão ausentes na vacina BCG e na maioria das outras micobactérias não-tuberculosas, à exceção do *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium szulgai* e *Mycobacterium marinum*⁸⁸⁻⁹⁰. Logo, tais testes devem oferecer maior especificidade que a PT para o diagnóstico da infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*. Lein et al.⁹¹ mostraram que pacientes com doença pulmonar causada pelo complexo *Mycobacterium avium* apresentavam os exames negativos.

Os genes que codificam esses antígenos encontram-se localizados na chamada região de diferença 1 do genoma da *Mycobacterium tuberculosis*. São deletados do genoma do *Mycobacterium bovis* do BCG e também não ocorrem no genoma de algumas micobactérias não-tuberculosas como a *Mycobacterium avium*⁶⁸. Assim, os antígenos utilizados nos IGRAs não estão presentes no BCG e em algumas micobactérias não-tuberculosas⁹². Budnick et al.⁹³ sugerem que o QFT-G identificaria indiretamente todo o complexo *Mycobacterium tuberculosis*: *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium microcoti* e *Mycobacterium canetti*. Gey Van Pittius et al.⁹⁴ sugerem que, embora o *Mycobacterium avium* e a maioria das micobactérias não-tuberculosas não possuam os genes que codificam as proteínas ESAT-6 e CFP-10, alguns genes presentes em algumas dessas micobactérias poderiam produzir proteínas que apresentariam reação cruzada com os genes associados ao segmento região de diferença 1. No entanto, Wang et al.⁹⁵ confirmaram a acurácia dos IGRAs para diagnóstico de TB em atividade mesmo em áreas endêmicas para micobactérias não-tuberculosas.

Esses testes parecem não ser influenciados pela vacinação prévia com BCG^{79,88} e menos influenciados por infecção prévia por micobactérias não-tuberculosas, o que aumenta sua sensibilidade e especificidade diagnósticas quando comparados à PT^{10,17,29,79,87,88,96}. Outras vantagens de tais testes são: necessidade de apenas uma visita (sem retorno para a leitura, como na PT), resultados em 24 horas, eliminação de erros de aplicação e interpretação de leitura da PT, uso de pequeno volume de sangue (o que é bom para a faixa etária pediátrica) e ausência do efeito *booster*, por não expor o próprio paciente a um antígeno. A Tabela 1 compara a PT

com os IGRAs. Richeldi et al.¹⁸ comentam que o fato de as proteínas ESAT-6 e CFP-10 estarem presentes no PPD possa levar, ao menos teoricamente, a que testes de PT repetidas vezes possam aumentar a resposta das células T a tais antígenos. Disso resultariam resultados falso-positivos no ELISPOT, método extremamente sensível mesmo a pequeno número de células T⁹⁷. No entanto, o mesmo estudo¹⁸ mostrou que, na prática, pacientes submetidos à PT repetidas vezes não tiveram positividade no ELISPOT. Esse teria alta especificidade mesmo em pacientes com PT falso-positiva devido ao efeito *booster*, podendo ser utilizado naqueles pacientes em investigação e que já foram submetidos à PT repetidas vezes. No entanto, erros de coleta, transporte, técnica e interpretação podem diminuir a sua acurácia. O sangue deve ser incubado com os antígenos sintéticos no máximo 12 horas após sua coleta. Outras limitações importantes são o custo do exame e a necessidade de um laboratório adequado à técnica do exame. Isso pode limitar seu uso em países em desenvolvimento, exatamente aqueles onde a TB é mais frequentemente endêmica. Outra limitação importante dos IGRAs, assim como também da PT, é a não-diferenciação de TB infecção da doença. O diagnóstico de TB infecção requer a exclusão da doença a partir de dados clínicos e exames complementares⁸⁷.

Os IGRAs podem apresentar resultados indeterminados por erros técnicos, pelo encontro de alta quantidade de IFN- γ no controle nulo ou, ainda, se o controle positivo com fitohemaglutinina (potente mitógeno estimulador de células T) determinar a produção de pequena ou nenhuma quantidade de IFN- γ ⁹. Essa baixa resposta mitógena pode refletir anergia ou falta de capacidade do sistema imunológico de montar resposta celular eficaz. Assim, também os IGRAs podem ser afetados por estados de imunossupressão. No entanto, resultados indeterminados podem, eventualmente, ser encontrados em indivíduos imunocompetentes⁸⁷. A literatura tem mostrado que resultados indeterminados foram encontrados em até 11% dos pacientes testados com QFT-G e tal fato deve estar associado aos poucos pacientes imunossuprimidos incluídos nesses estudos⁹⁸⁻¹⁰⁰. Ferrara et al.⁷⁹ encontraram alta taxa de resultados indeterminados (21,4%) numa população onde 20% dos pacientes recebiam

Tabela 1 - Comparação entre PTs e IGRAs

	PT	IGRA
Visita ao serviço de saúde	2 vezes	1 vez
Tempo para resultados	72-96 horas	24 horas
Resultados falso-positivos	BCG previamente, efeito booster	Não
Resultados falso-negativos	Imunossuprimidos, TB grave	Possível, mas pouco provável
Interpretação dos resultados	Sujeita a erros de avaliação	Informatizada

BCG = vacina Bacilo Calmette-Guérin; IGRA = testes diagnósticos baseados na liberação de interferon-gama (*interferon-gamma release assay*); PT = prova tuberculínica; TB = tuberculose.

imunossupressores. Ravn et al.¹⁰¹, ratificando este estudo, encontraram resultados indeterminados com QFT-G em nove pacientes, dos quais três tinham infecção pelo HIV, um recebia imunossupressor e dois tinham quadros avançados de TB. Os resultados indeterminados devido à falta de resposta mitógena sugerem que os mesmos possam estar associados à imunossupressão. Portanto, o clínico deve ficar atento para a possibilidade de estado de anergia e deverá continuar a investigação de TB no paciente com suspeita de infecção latente ou doença ativa^{9,29}.

Poucos estudos têm abordado a importância dos IGRAs no contexto dos pacientes imunossuprimidos. Alguns estudos mostraram pequena diminuição na resposta dos IGRAs quando comparada à população não-imunossuprimida^{21,102}. Outros estudos mostraram que a prevalência de resultados positivos no ELISPOT foi superior à encontrada na PT, principalmente em imunossuprimidos^{16,102,103}. No entanto, Brock et al.¹⁰⁴ encontraram baixa prevalência de resultados positivos do QFT em pacientes assintomáticos infectados pelo HIV. Os resultados indeterminados eram mais frequentes em pacientes com contagem de CD4 menor que 100 células/mm³.

Estudos recentes têm mostrado que ambos os testes apresentam altas sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da TB doença, mas poucos abordaram a TB infecção, motivo inicial de sua aplicação^{21,79,96,102}. Ferrara et al.⁷⁹ sugerem que a especificidade dos IGRAs seja maior que a PT para o diagnóstico da infecção tuberculosa. Pai et al.¹⁰⁵ mostraram que os IGRAs são mais específicos que a PT quando se avaliam populações vacinadas com BCG. De modo geral, os diferentes estudos em adultos têm mostrado concordância de 60-80% quando comparados PT e os métodos baseados na produção de IFN- γ . Em relação à sensibilidade, há vários estudos mostrando a superioridade dos IGRAs sobre a PT^{15,102,103,106}. Ponce de Leon et al.¹⁵ mostraram recentemente que, numa população em área endêmica para TB, o ELISPOT foi significativamente mais sensível que a PT para diagnóstico de TB latente em pacientes com artrite reumatoide, mas não em pacientes hígidos. Tal achado provavelmente esteve associado à imunossupressão da doença e/ou da medicação utilizada no tratamento da mesma. No entanto, estudando um grupo de 2.381 contactantes de casos de TB em Gâmbia, Jackson-Sillah et al.¹⁰⁷ mostraram que o ELISPOT apresentou sensibilidade inferior à PT, mas chamam a atenção que o mesmo possa ser importante para o diagnóstico na faixa etária pediátrica. Em recente meta-análise, Pai et al.¹⁰⁸ concluíram que os IGRAs (especialmente o QFT-G em placa ou tubo) têm excelente especificidade para o diagnóstico da infecção tuberculosa latente, enquanto a PT tem alta especificidade em população não vacinada com BCG, mas baixa especificidade em população previamente vacinada. A sensibilidade dos IGRAs e da PT permanece controversa. É de difícil avaliação por meta-análise pelas diferenças metodológicas entre os estudos incluídos, porém o ELISPOT parece ser mais sensível que o QFT-G e a PT. Ambos mostraram sensibilidade semelhante entre si, donde se conclui que essa maior sensibilidade do ELISPOT pode ser útil na avaliação de pacientes imunossuprimidos⁶⁸. Cabe lembrar que a desnutrição, a própria imunossupressão e TB grave podem ocasionar anergia e contribuir para uma diminuição da sensibilidade dos IGRAs¹⁰⁸.

Em relação à resposta aos IGRAs na faixa etária pediátrica, o número de estudos ainda é insuficiente, e há várias controvérsias. Como anteriormente discutido, a imunidade celular tende a amadurecer com o crescimento. Estudos mostraram que a produção de IFN- γ detectado pelo QFT-G pode ser afetada pelo crescimento, mas que tal não ocorre com o ELISPOT, exceto nas primeiras semanas de vida. Esse teste tem capacidade de detectar a produção do IFN- γ mesmo com baixo número de células secretoras. Isso poderia explicar a maior frequência de resultados indeterminados do QFT-G quando comparado ao ELISPOT na faixa etária pediátrica em relação a adultos^{14,29,109}.

Em crianças sul-africanas com TB ativa em área de alta incidência de AIDS, Liebeschuetz et al.²¹ mostraram que o ELISPOT era muito mais sensível que a PT e que idade inferior a 3 anos, coinfeção pelo HIV e desnutrição diminuíram a sensibilidade da PT, mas não do ELISPOT. Em surtos escolares, Ewer et al.¹¹⁰ mostraram que o ELISPOT mostrou melhor correlação com a exposição ao *Mycobacterium tuberculosis* do que a PT num grupo de adolescentes de 11 a 15 anos, e que a vacinação prévia com BCG não influiu nos resultados do teste. A maior sensibilidade do ELISPOT em relação à PT também foi demonstrada em outros estudos^{95,111}. A sensibilidade do ELISPOT para o diagnóstico de doença ativa foi superior ao QFT-G e à PT, enquanto esses apresentaram resultados semelhantes entre si. Não há dados fidedignos para avaliação da especificidade dos IGRAs para diagnóstico da TB ativa^{14,109,112}.

Considerando-se a infecção latente, a falta de padrão-ouro para esse diagnóstico cria dificuldades para se comparar novos testes com a PT¹⁴. Em relação ao QFT-G, há controvérsias, mas dados mais recentes sugerem que tal exame possa ser menos sensível que a PT no diagnóstico da TB infecção¹⁰⁹. Vários estudos em crianças têm mostrado que o ELISPOT tem maior sensibilidade que a PT no diagnóstico da infecção latente^{18,19,110}. Pelo fato de o ELISPOT se correlacionar melhor com diferentes padrões de exposição à TB do que a PT, infere-se que tenha melhor sensibilidade que esta. Contudo, há necessidade de estudos longitudinais para confirmar a real melhor sensibilidade dos IGRAs. Em relação à especificidade, os IGRAs mostraram ser mais específicos que a PT no diagnóstico da infecção latente^{14,113,114}.

Conclusão

A PT avalia uma resposta inflamatória multimedida *in vivo* a múltiplos antígenos tubercúlicos, enquanto os IGRAs avaliam, *ex vivo*, a produção de IFN- γ por linfócitos dos pacientes frente a um estímulo composto de pequeno número de antígenos do *Mycobacterium tuberculosis*. Embora os IGRAs tenham sido planejados como estratégia para diagnosticar a infecção latente, estudos têm mostrado que podem também ser úteis para o diagnóstico da doença ativa. Nesse caso, o resultado negativo seria suficiente para afastar a possibilidade de doença, ou seja, os IGRAs parecem ter alto valor preditivo negativo. Isso seria particularmente útil em crianças, imunossuprimidos e pacientes com culturas negativas,

nos quais o diagnóstico de doença ativa é mais difícil de ser estabelecido utilizando-se os testes convencionais¹³.

Embora ainda haja controvérsias, de modo geral se aceita que os IGRAs sejam mais sensíveis e específicos que a PT para o diagnóstico da infecção latente e da doença ativa. Faltam, porém, estudos longitudinais que permitam estabelecer esses dados com maior segurança. Estudos longitudinais também são essenciais para se determinar o risco futuro de desenvolvimento de doença ativa nos pacientes com resultados positivos, diferentemente do que ocorre com a PT. Com relação à PT, já se estabeleceram os riscos de doença e benefícios da terapia associados a diferentes resultados do teste⁶⁸. Tais fatos reforçam a necessidade de mais estudos sobre IGRAs em diferentes populações, principalmente naquelas com alta incidência de TB e que incluam pacientes com condições que levam à depressão da resposta imunológica celular, além de estudos específicos na faixa etária pediátrica.

Em termos de saúde pública, os IGRAs poderiam se constituir, ao menos por ora, em complemento em relação à PT, avaliando-se a relação custo-benefício. Embora esses testes requeiram apenas uma visita e não sejam realizados diretamente no paciente, ainda são testes caros e que requerem laboratórios especializados e profissionais aptos a realizá-los em tempo hábil. Oxlade et al.¹¹⁵ concluíram que a melhor relação custo-benefício do QFT seria testar pacientes sabidamente com PT positiva. Por ora, enquanto o CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*), órgão estadunidense, recomenda que o QFT-G substitua a PT em qualquer situação, órgãos de saúde da Inglaterra sugerem que os IGRAs devam ser avaliados conjuntamente com a PT. Apenas nos casos em que haja probabilidade de encontrar-se PT falsamente negativa, como nos imunossuprimidos e em crianças pequenas, estariam indicados para uso na fase inicial de investigação^{13,14,68,87}.

O achado de PT e IGRAs negativos em população imunossuprimida não exclui a TB latente ou a doença

ativa, ao menos por ora. Na prática, indivíduos com esses testes negativos, mas com fatores de risco de progressão de TB latente para doença ativa, poderão necessitar de quimioprofilaxia ou tratamento da doença⁸⁷.

A Organização Mundial de Saúde, reconhecendo a importância dos IGRAs em relação aos estudos clínicos, epidemiológicos e de pesquisa básica, copatrocinou uma reunião de *experts* em Genebra, Suíça, em março de 2006. Desse encontro, surgiram sete grandes linhas de prioridade para pesquisa em relação aos mesmos (Tabela 2)¹³. Apesar do grande número de estudos recentemente publicados, muitas perguntas permanecem sem resposta. A capacidade dos IGRAs em identificar pacientes com infecção latente com maior risco de evoluir para doença ativa e, assim, permitir que esses pacientes se beneficiem de medidas preventivas precocemente, bem como o comportamento de tais testes em estudos longitudinais envolvendo populações consideradas de alto risco, como crianças e imunossuprimidos, oferecem um campo fértil para a pesquisa, principalmente em países como o Brasil, onde a TB está longe de ser erradicada.

Referências

1. Whalen CC. *Diagnosis of latent tuberculosis infection: measure for measure*. JAMA. 2005;293:2785-7.
2. Dolin PJ, Raviglione MC, Kochi A. *Global tuberculosis incidence and mortality during 1990-2000*. Bull World Health Organ. 1994;72:213-20.
3. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Raviglione MC. *Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country*. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA. 1999;282:677-86.
4. Brasil. Ministério da Saúde http://portal.saude.gov.br/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=21445. Acesso: 20/11/2007.
5. *Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection*. American Thoracic Society. MMWR Recomm Rep. 2000;49(RR-6):1-51.

Tabela 2 - Prioridades de pesquisa em relação aos IGRAs sugeridas pela OMS

Desenvolvimento de novos ensaios e considerações biológicas

Performance dos testes em populações de alto risco e aquelas pouco estudadas (onde foram incluídos pacientes imunossuprimidos e as crianças)

Modelos de predição de riscos

Reprodutibilidade dos testes

Avaliação das células T durante o tratamento da tuberculose

Aplicações epidemiológicas

Operacionalização do uso dos testes em relação a diferentes sistemas de saúde e condições socioeconômicas

IGRA = testes diagnósticos baseados na liberação de interferon-gama (*interferon-gamma release assay*);
OMS = Organização Mundial da Saúde.

6. Cantwell MF, Snider DE Jr, Cauthen GM, Onorato IM. Epidemiology of tuberculosis in the United States, 1985 through 1992. *JAMA*. 1994;272:535-9.
7. Ferrand RA, Bothamley GH, Whelan A, Dockrell HM. Interferon-gamma responses to ESAT-6 in tuberculosis patients early into and after anti-tuberculosis treatment. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2005;9:1034-9.
8. Gardam MA, Keystone EC, Menzies R, Manners S, Skamene E, Long R, et al. Anti-tumor necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanisms of action and clinical management. *Lancet Infect Dis*. 2003;3:148-55.
9. Pai M, Lewinsohn DM. Interferon-gamma assays for tuberculosis: is anergy the Achilles' heel? *Am J Resp Crit Care Med*. 2005;172:519-21.
10. Efthimiou P, Sood S. QuantiFERON TB Gold Test: the new standard for screening of latent tuberculosis in patients with rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis*. 2007;66:276.
11. Horsburgh CR Jr. Priorities for the treatment of latent tuberculosis in the United States. *N Engl J Med*. 2004;350:2060-7.
12. Keane J, Bresnihan B. Tuberculosis reactivation during immunosuppressive therapy in rheumatic diseases: diagnostic and therapeutic strategies. *Curr Opin Rheumatol*. 2008;20:443-9.
13. Pai M, Dheda K, Cunningham J, Scano F, O'Brien R. T-cell assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: moving the research agenda forward. *Lancet Infect Dis*. 2007;7:428-38.
14. Lalvani A, Millington KA. T cell-based diagnosis of childhood tuberculosis infection. *Curr Opin Infect Dis*. 2007;20:264-71.
15. Ponce de Leon D, Acevedo-Vasquez E, Alvizuri S, Gutierrez C, Cucho M, Alfaro J, et al. Comparison of an interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detection of tuberculosis (TB) infection in patients with rheumatoid arthritis in a TB-endemic population. *J Rheumatol*. 2008;35:776-81.
16. Dosanjh DP, Hinks TS, Innes JA, Deeks JJ, Pasvol G, Hackforth S, et al. Improved diagnostic evaluation of suspected tuberculosis. *Ann Intern Med*. 2008;148:325-36.
17. Barnes PF. Diagnosing latent tuberculosis infection: turning glitter to gold. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170:5-6.
18. Richeldi L, Ewer K, Losi M, Bergamini BM, Roversi P, Deeks J, et al. T cell-based tracking of multidrug resistant tuberculosis infection after brief exposure. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170:288-95.
19. 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;366:1443-51.
20. Murakami S, Takeno M, Kirino Y. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* antigen specific immune responses by using ELISPOT technique in rheumatoid arthritis patients receiving immunosuppressive therapies. *Arthritis Rheum* 2006; 9:S517.
21. Liebeschuetz S, Bamber S, Ewer K, Deeks J, Pathan AA, Lalvani A. Diagnosis of tuberculosis in South African children with a T-cell-based assay: a prospective cohort study. *Lancet*. 2004;364:2196-203.
22. Richeldi L. An update on the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;174:736-42.
23. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. WHO report 2007. Geneva, World Health Organization (WHO/HTM/TB/2007.376).
24. Ducati RG, Ruffino-Netto A, Basso LA, Santos DS. The resumption of consumption - a review on tuberculosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006;101:697-714.
25. Kurki PT. Safety aspects of the long term cyclosporine A therapy. *Scand J Rheumatol Suppl*. 1992;95:35-8.
26. Stuck AE, Minder CE, Frey FJ. Risk of infectious complications in patients taking glucocorticosteroids. *Rev Infect Dis*. 1989;11:954-63.
27. Boerbooms AM, Kerstens PJ, van Loenhout JW, Mulder J, van de Putte LB. Infections during low-dose methotrexate treatment in rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum*. 1995;24:411-21.
28. Andonopoulos AP, Safridi C, Karokis D, Bounas A. Is a purified protein derivative skin test and subsequent antituberculous chemoprophylaxis really necessary in systemic rheumatic diseases patients receiving corticosteroids? *Clin Rheumatol*. 1998;17:181-5.
29. 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;367:1328-34.
30. American Thoracic Society; Centers for Disease Control and Prevention; Infectious Diseases Society of America. American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/ Infectious Diseases Society of America: controlling tuberculosis in the United States. *Am J Resp Crit Care Med*. 2005;172:1169-227.
31. World Health Organization. World health report 2004: changing history. Geneva: WHO; 2004.
32. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/epidemio.pdf>. Acesso: 23/07/2008.
33. Feja K, Saiman L. Tuberculosis in children. *Clin Chest Med*. 2005;26:295-312.
34. Lewinsohn DA, Gennaro ML, Scholvinck L, Lewinsohn DM. Tuberculosis immunology in children: diagnostic and therapeutic challenges and opportunities. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2004;8:658-74.
35. Starke JR, Jacobs RF, Jereb J. Resurgence of tuberculosis in children. *J Pediatr*. 1992;120:839-55.
36. Marchant A, Goldman M. T cell-mediated immune response in human newborns: ready to learn? *Clin Exp Immunol*. 2005;141:10-8.
37. Rook GA, Hernandez-Pando R. The pathogenesis of tuberculosis. *Annu Rev Microbiol*. 1996;50:259-84.
38. Fratazzi C, Arbeit RD, Carini C, Balcewicz-Sablinska MK, Keane J, Kornfeld H, et al. Macrophage apoptosis in mycobacterial infections. *J Leukoc Biol*. 1999;66:763-4.
39. Clemens DL, Horwitz MA. Characterization of the *Mycobacterium tuberculosis* phagosome and evidence that phagosomal maturation is inhibited. *J Exp Med*. 1995;181:257-70.
40. Othieno C, Hirsch CS, Hamilton BD, Wilkinson K, Ellner JJ, Toossi Z. Interaction of *Mycobacterium tuberculosis*-induced transforming growth factor beta 1 and interleukin-10. *Infect Immun*. 1999;67:5730-5.
41. Hirsch CS, Yoneda T, Averill L, Ellner JJ, Toossi Z. Enhancement of intracellular growth of *Mycobacterium tuberculosis* in human monocytes by transforming growth factor-beta 1. *J Infect Dis*. 1994;170:1229-37.
42. Hickman SP, Chan J, Salgame P. *Mycobacterium tuberculosis* induces differential cytokine production from dendritic cells and macrophages with divergent effects on naïve T cell polarization. *J Immunol*. 2002;168:4636-42.
43. Fortsch D, Rollinghoff M, Stenger S. IL-10 converts human dendritic cells into macrophage-like cells with increased antibacterial activity against virulent *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol*. 2000;165:978-87.
44. Holt PG. Antigen presentation in the lung. *Am J Resp Crit Care Med*. 2000;162:S151-6.
45. Nelson DJ, Holt PG. Defective regional immunity in the respiratory tract of neonates is attributable to hyporesponsiveness of local dendritic cells to activation signals. *J Immunol*. 1995;155:3517-24.
46. Turner J, Frank AA, Brooks JV, Gonzalez-Juarrero M, Orme IM. The progression of chronic tuberculosis in the mouse does not require the participation of B lymphocytes or interleukin-4. *Exp Gerontol*. 2001;36:537-45.
47. Bosio CM, Gardner D, Elkins KL. Infection of B cell-deficient mice with CDC 1551, a clinical isolate of *Mycobacterium tuberculosis*: delay in dissemination and development of lung pathology. *J Immunol*. 2000;164:6417-25.
48. Glatman-Freedman A, Casadevall A. Serum therapy for tuberculosis revisited: reappraisal of the role of antibody-mediated immunity against *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11:514-32.
49. Sant'Anna CC, Fonseca LS, Saad MH. Relação entre o diagnóstico sorológico (ELISA) e a gravidade da tuberculose pulmonar na infância. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2001;34:531-35.
50. Ashtekar MD, Samuel AM, Kameswaran M, Kadival GV, Sakhalkar V, Rajadhyaksha S. A study of tubercular antigen and antibody in childhood tuberculosis. *J Trop Pediatr*. 1992;38:22-6.
51. Mahadevan S. Clinical utility of serodiagnosis of tuberculosis. *Indian J Pediatr*. 1997;64:97-103.
52. Papadakis KA, Targan SR. Tumor necrosis factor: biology and therapeutic inhibitors. *Gastroenterology*. 2000;119:1148-57.
53. Havell EA. Evidence that tumor necrosis factor has an important role in antibacterial resistance. *J Immunol*. 1989;143:2894-9.
54. Kindler V, Sappino AP, Grau GE, Pigué PF, Vassalli P. The inducing role of tumor necrosis factor in the development of bactericidal granulomas during BCG infection. *Cell*. 1989;56:731-40.

55. Smith S, Liggitt D, Jeromsky E, Tan X, Skerrett SJ, Wilson CB. Local role for tumor necrosis factor alpha in the pulmonary inflammatory response to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Infect Immun*. 2002;70:2082-9.
56. Keane J, Balcewicz-Sablinska MK, Remold HG, Chupp GL, Meek BB, Fenton MJ, et al. Infection by *Mycobacterium tuberculosis* promotes human alveolar macrophage apoptosis. *Infect Immun*. 1997;65:298-304.
57. Keane J, Remold HG, Kornfeld H. Virulent *Mycobacterium tuberculosis* strains evade apoptosis of infected alveolar macrophages. *J Immunol*. 2000;164:2016-20.
58. Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwieterman WD, et al. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med*. 2001;345:1098-104.
59. Lee JH, Slifman NR, Gershon SK, Edwards ET, Schwieterman WD, Siegel JN, et al. Life-threatening histoplasmosis complicating immunotherapy with tumor necrosis factor alpha antagonists infliximab and etanercept. *Arthritis Rheum*. 2002;46:2565-70.
60. Shingadia D, Novelli V. Diagnosis and treatment of tuberculosis in children. *Lancet Infect Dis*. 2003;3:624-32.
61. Tufariello JM, Chan J, Flynn JL. Latent tuberculosis: mechanisms of host and bacillus that contribute to persistent infection. *Lancet Infect Dis*. 2003;3:578-90.
62. Newport MJ, Huxley CM, Huston S, Hawrylowicz CM, Oostra BA, Williamson R, et al. A mutation in the interferon-gamma-receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. *N Engl J Med*. 1996;335:1941-9.
63. Zhang M, Lin Y, Iyer DV, Gong J, Abrams JS, Barnes PF. T-cell cytokine responses in human infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun*. 1995;63:3231-4.
64. Frenkel L, Bryson YJ. Ontogeny of phytohemagglutinin-induced gamma interferon by leukocytes of healthy infants and children: evidence for decreased production in infants younger than 2 months of age. *J Pediatr*. 1987;111:97-100.
65. Yamada T, Nakajima A, Inoue E, Tanaka E, Hara M, Tomatsu T, et al. Increased risk of tuberculosis in patients with rheumatoid arthritis in Japan. *Ann Rheum Dis*. 2006;65:1661-3.
66. Holden M, Dubin MR, Diamond PH. Frequency of negative intermediate-strength tuberculin sensitivity in patients with active tuberculosis. *N Engl J Med*. 1971;285:1506-9.
67. Battershill JH. Cutaneous testing in the elderly patient with tuberculosis. *Chest*. 1980;77:188-9.
68. Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: new test for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. *Ann Intern Med*. 2007;146:340-54.
69. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This is a Joint Statement of the American Thoracic Society (ATS) and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). This statement was endorsed by the Council of the Infectious Diseases Society of America. (IDSA), September 1999, and the sections of this statement. *Am J Resp Crit Care Med*. 2000;161:S221-47.
70. Warris A, Bjornekleit A, Gaustad P. Invasive pulmonary aspergillosis associated with infliximab therapy. *N Engl J Med*. 2001;344:1099-100.
71. Huebner RE, Schein MF, Bass JB Jr. The tuberculin skin test. *Clin Infect Dis*. 1993;17:968-75.
72. Tissot F, Zanetti G, Francioli P, Zellweger JP, Zysset F. Influence of bacille Calmette-Guerin vaccination on size of tuberculin skin test reaction: to what size? *Clin Infect Dis*. 2005;40:211-7.
73. Richeldi L. An update on the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;174:736-42.
74. Porsa E, Cheng L, Seale MM, Delclos GL, Ma X, Reich R, Musser JM, et al. Comparison of a new ESAT-6/CFP-10 peptide-based gamma interferon assay and a tuberculin skin test for tuberculosis screening in a moderate-risk population. *Clin Vaccine Immunol*. 2006;13:53-8.
75. Radhakrishna S, Frieden TR, Subramani R; Tuberculosis Research Centre (ICMR). Association of initial tuberculin sensitivity, age and sex with the incidence of tuberculosis in south India: a 15-year follow-up. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2003;7:1083-91.
76. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. This official statement of the American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This statement was endorsed by the Council of the Infectious Disease Society of America, September 1999. *Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children*. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161:1376-95.
77. Dogra S, Narang P, Mendiratta DK, Chaturvedi P, Reingold AL, Colford Jr JM, et al. Comparison of a whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. *J Infect*. 2007;54:267-76.
78. Gustafson P, Lisse I, Gomes V, Vieira CS, Lienhardt C, Naclér A, et al. Risk factors for positive tuberculin skin test in Guinea-Bissau. *Epidemiology*. 2007;18:340-7.
79. Ferrara G, Losi M, Meacci M, Meccugni B, Piro R, Roversi P, et al. Routine hospital use of a new commercial whole blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172:631-5.
80. Ministério da Saúde. Manual técnico para o controle da tuberculose. Cadernos de atenção básica no. 6. Série A. Normas e manuais técnicos; no. 148. Brasília, DF: MS; 2002.
81. Kim HA, Yoo CD, Baek HJ, Lee EB, Ahn C, Han JS, et al. *Mycobacterium tuberculosis* infection in a corticosteroid-treated rheumatic disease patient population. *Clin Exp Rheumatol*. 1998;16:9-13.
82. Schatz M, Patterson R, Kloner R, Falk J. The prevalence of tuberculosis and positive tuberculin skin test in a steroid-treated asthmatic population. *Ann Intern Med*. 1976;84:261-5.
83. Askling J, Forged CM, Brandt L. Risk and case characteristics of tuberculosis in rheumatoid arthritis associated with tumor necrosis factor antagonists in Sweden. *Arthritis Rheum*. 2005;52:1986-92.
84. Carmona L, Hernández-García C, Vadillo C, Pato E, Balsa A, González-Alvaro I, et al. Increased risk of tuberculosis in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2003;30:1436-9.
85. Wolfe F, Michaud K, Anderson J, Urbansky K. Tuberculosis infection in patients with rheumatoid arthritis and the effect of infliximab therapy. *Arthritis Rheum*. 2004;50:372-9.
86. Lalvani A. Spotting latent infection: the path to better tuberculosis control. *Thorax*. 2003;58:916-8.
87. Mazurek GH, Jerreb J, Lobue P, Iademarco MF, Metchock B, Vernon A; Division of Tuberculosis Elimination, National Center for HIV, STD, and TB Prevention, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for using the QuantiFERON®-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States. *MMWR Recomm Rep*. 2005;54:49-55.
88. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet*. 2000;356:1099-104.
89. Arend SM, van Meijgaarden KE, de Boer K, de Palou EC, van Soolingen D, Ottenhoff TH, et al. Tuberculin skin testing and in vitro T cell responses to ESAT-6 and culture filtrate protein 10 after infection with *Mycobacterium marinum* or *M. kansasii*. *J Infect Dis*. 2002;186:1797-807.
90. Gey van Pittius NC, Warren RM, van Helden PD. ESAT-6 and CFP-10: what is the diagnosis? *Infect Immun*. 2002;70:6509-10.
91. Lein AD, von Reyn CF, Ravn P, Horsburgh CR Jr, Alexander LN, Andersen P. Cellular immune responses to ESAT-6 discriminate between patients with pulmonary disease due to *Mycobacterium avium* complex and those with pulmonary disease due to *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1999;6:606-9.
92. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty DM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet*. 2000;356:1099-104.
93. Budnick LD, Burday M, Brachman G, Mangura CT, DeBlock D, Lardizabal A. Blood assay for tuberculosis: initial findings in a replacement surveillance program. *J Occup Environ Med*. 2006;48:1115-7.
94. Gey Van Pittius NC, Gamielidien J, Hide W, Brown GD, Siezen RJ, Beyers AD. The ESAT-6 gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* and other high G+C Gram-positive bacteria. *Genome Biol*. 2001;2:RESEARCH0044.
95. Wang JY, Chou CH, Lee LN, Hsu HL, Jan IS, Hsueh PR, et al. Diagnosis of tuberculosis by an enzyme-linked immunospot assay for interferon-gamma. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:553-8.
96. Schölvinc E, Wilkinson KA, Whelan AO, Martineau AR, Levin M, Wilkinson RJ. Gamma interferon-based immunodiagnosis of tuberculosis: comparison between whole-blood and enzyme-linked immunospot methods. *J Clin Microbiol*. 2004;42:829-31.

97. Lalvani A, Brookes R, Hambleton S, Britton WJ, Hill AV, McMichael AJ. Rapid effector function in CD8+ memory T cells. *J Exp Med*. 1997;186:859-65.
98. Pai M, Gokhale K, Joshi R, Dogra S, Kalantri S, Mendiratta DK, et al. *Mycobacterium tuberculosis* infection in health care workers in rural India: comparison of a whole-blood interferon gamma assay with tuberculin skin testing. *JAMA*. 2005;293:2746-55.
99. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170:59-64.
100. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170:65-9.
101. Ravn P, Munk ME, Andersen AB, Lundgren B, Lundgren JD, Nielsen LN, et al. Prospective evaluation of a whole-blood test using *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens ESAT-6 and CFP-10 for diagnosis of active tuberculosis. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2005;12:491-6.
102. Chapman AL, Munkanta M, Wilkinson KA, Pathan AA, Ewer K, Ayles H, et al. Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cells. *AIDS*. 2002;16:2285-93.
103. Piana F, Codecasa LR, Cavallerio P, Ferrarese M, Migliori GB, Barbarano L, et al. Use of a T-cell-based test for detection of tuberculosis infection among immunocompromised patients. *Eur Respir J*. 2006;28:31-4.
104. Brock I, Ruhwald M, Lundgren B, Westh H, Mathiesen LR, Ravn P. Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon-gamma test. *Respir Res*. 2006;7:56.
105. Pai M, Riley LW, Colford JM Jr. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2004;4:761-76.
106. Ponce de Leon D, Acevedo-Vasquez E, Alvizuri S, Gutierrez C, Cucho M, Alfaro J, et al. Comparison of an interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detection of tuberculosis (TB) infection in patients with rheumatoid arthritis in a TB-endemic population. *J Rheumatol*. 2008;35:776-81.
107. Passalent L, Khan K, Richardson R, Wang J, Dedier H, Gardam M. Detecting latent tuberculosis infection in hemodialysis patients: a head-to-head comparison of the T-SPOT.TB test, tuberculin skin test, and an expert physician panel. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2007;2:68-73.
108. Jackson-Sillah D, Hill PC, Fox A, Brookes RH, Donkor SA, Lugos MD, et al. Screening for tuberculosis among 2381 household contacts of sputum-smear-positive cases in The Gambia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2007;101:594-601.
109. Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. *Ann Intern Med*. 2008;149:177-84.
110. Connell TG, Curtis N, Ranganathan SC, Buttery JP. Performance of a whole blood interferon gamma assay for detecting latent infection with *Mycobacterium tuberculosis* in children. *Thorax*. 2006;61:616-20.
111. Ewer K, Deeks J, Alvarez L, Bryant G, Waller S, Andersen P, et al. Comparison of T-cell based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak. *Lancet*. 2003;361:1168-73.
112. Connell T, Bar-Zeev N, Curtis N. Early detection of perinatal tuberculosis using a whole blood interferon-gamma release assay. *Clin Infect Dis*. 2006;42:e82-5.
113. Molicotti P, Bua A, Mela G, Olmeo P, Delogu R, Ortu S, et al. Performance of QuantiFERON-TB testing in a tuberculosis outbreak at a primary school. *J Pediatr*. 2008;152:585-6.
114. 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;136:1179-87.
115. Oxlade O, Schwartzman K, Menzies D. Interferon-gamma release assays and TB screening in high-income countries: a cost-effectiveness analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2007;11:16-26.

Correspondência:

Flávio R. Sztajn bok
 Rua Álvaro Ramos, 405/804, bloco 1
 CEP 22280-110 - Rio de Janeiro, RJ
 Tel.: (21) 2275.7372, (21) 9994.7006
 Fax: (21) 2275.7372, (21) 2264.2082
 E-mail: flavios@skydome.net