



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

PATRÍCIA MARQUES RODRIGUES BONI

**AVALIAÇÃO DA CONCORDÂNCIA ENTRE OS TESTES
TUBERCULÍNICO E QUANTIFERON[®]-TB GOLD *in tube* NO
DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO LATENTE PELO *Mycobacterium
tuberculosis* EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES**

VITÓRIA
2015

PATRÍCIA MARQUES RODRIGUES BONI

**AVALIAÇÃO DA CONCORDÂNCIA ENTRE OS TESTES
TUBERCULÍNICO E QUANTIFERON®-TB GOLD *in tube* NO
DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO LATENTE PELO *Mycobacterium
tuberculosis* EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas.

Orientador: Prof. Dr. Reynaldo Dietze.

Co-orientador: Profa. Dra. Angelica Espinosa
Barbosa Miranda.

VITÓRIA
2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde da Universidade
Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

B715a Boni, Patrícia Marques Rodrigues, 1983 -
Avaliação da concordância entre os testes tuberculínico e o
QuantiFERON®-TB Gold *in tube* no diagnóstico da infecção
latente pelo *Mycobacterium tuberculosis* em crianças e
adolescentes / Patrícia Marques Rodrigues Boni – 2015.
116 f. : il.

Orientador: Reynaldo Dietze.

Coorientador: Angelica Espinosa Barbosa Miranda.

Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da
Saúde.

1. Tuberculose latente. 2. Crianças. 3. Prova Tuberculínica.
4. Interferon gama. I. Dietze, Reynaldo. II. Miranda, Angelica
Espinosa Barbosa. III. Universidade Federal do Espírito Santo.
Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

PARECER ÚNICO DA COMISSÃO JULGADORA DE
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

A mestranda PATRICIA MARQUES RODRIGUES BONI apresentou a dissertação intitulada “**AVALIAÇÃO DA CONCORDÂNCIA ENTRE OS TESTES TUBERCULÍNICO E QUANTIFERON®-TB GOLD *in tube* NO DIAGNÓSTICO DA INFEÇÃO LATENTE PELO *Mycobacterium tuberculosis* EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES**” em sessão pública, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.

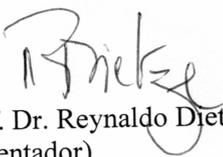
Considerando a apresentação oral dos resultados, a qualidade e relevância dos mesmos, a Comissão Examinadora decidiu (X) **aprovar** () **reprovar** a dissertação para habilitar a enfermeira PATRICIA MARQUES RODRIGUES BONI a obter o Grau de MESTRE EM DOENÇAS INFECCIOSAS.

Vitória, ES, 06 de julho de 2015


Prof. Dr. Clemax Couto Sant'Anna
(Membro Externo)


Prof. Dra. Margareth Maria Pretti Dalcolmo
(Membro Externo)


Prof. Dr. Moises Palaci
(Membro Interno)


Prof. Dr. Reynaldo Dietze
(Orientador)


Prof. Dra. Angelica Espinosa Barbosa Miranda
(Coorientadora)

Dedicatória

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Carmem Maria Marques de Melo Rodrigues e Emerson Rodrigues Gonçalves, pelo amor incondicional e por terem me apoiado no momento mais difícil da minha vida. Sem vocês, eu jamais teria chegado até aqui!!!

Ao meu esposo, Robison Boni, pelo amor, companheirismo, paciência e incentivo!!! Obrigada por sempre estar ao meu lado!!!

À minha filha, Isabella, que me fez entender e descobrir o significado do amor verdadeiro! Amo você!!!

À minha querida irmã, Fernanda, pela amizade e cumplicidade.

Agradecimientos

AGRADECIMENTOS

Desafio tão grande quanto escrever esta dissertação, foi utilizar de um pequeno número de páginas para agradecer a todas as pessoas que fizeram parte desta minha trajetória!

À Deus, por ser luz no meu caminho e me dar força interior para superar as dificuldades.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Reynaldo Dietze, por quem tenho grande respeito e admiração! Obrigada por toda paciência, dedicação e compromisso. Agradeço pelos valiosos ensinamentos, sugestões, críticas construtivas e correções durante o desenvolvimento desse trabalho, e especialmente por ter me “acolhido” nessa reta final!!! Sua competência e persistência, qualidades fundamentais para a busca e concretização de um sonho, me fizeram acreditar que tudo é possível quando se tem um ideal.

À Profa. Dra. Angelica Espinosa Barbosa Miranda, minha co-orientadora, por estar comigo nessa “jornada” desde o início!! Agradeço por ter me acolhido de forma tão generosa e pela confiança depositada em mim durante todo esse período.

Ao Prof. Dr. Carlos Maurício de Figueiredo, pelas preciosas contribuições estatísticas. Obrigada por ter me recebido em BH de forma tão gentil e acolhedora e por partilhar seus conhecimentos. Serei eternamente grata!

Ao Prof. Dr. Fausto Edmundo Pereira Lima, pelos valiosos ensinamentos e por sempre estar tão disponível para nós, alunos! Muito obrigada pelas correções, sugestões, esclarecimentos, e principalmente, pelas constantes demonstrações de sabedoria e humildade.

À minha querida amiga, Renata Lyrio Peres Nóbrega, pelo apoio, carinho e incentivo constante! Você participou de todas as etapas e sabe quão importante foi durante esse processo. Agradeço por estar presente em todos os momentos que precisei!!! E você sabe que foram muitos... Muito, muito obrigada por tudo e principalmente, pela amizade sincera que construímos durante esses anos!!!

À Solange Alves Vinhas, pelas correções e sugestões e pela disponibilidade em ajudar! Muito Obrigada!!

À Dra. Ana Daniela Izoton de Sadovsky, pela gentileza e disponibilidade na leitura e sugestões das análises sobre a avaliação nutricional!

Ao Prof. Dr. Rodrigo Ribeiro Rodrigues, chefe do Laboratório de Imunologia Molecular e Celular do NDI, por todo suporte necessário para a realização dos testes laboratoriais.

À Flávia e ao Lorenzo, pela competência profissional nos “trabalhos de bancada”, indispensável para obtenção de resultados confiáveis e de qualidade.

Às equipes do ICIDR, CDRC e CYD: Andressa, Aryadne, Roberto, Taís, Flávia, Alessandra, Priscilla, Cosme, Bruna, Carol, Rose, Dra. Lucília, Dr. David, Dra. Ana e Dra. Melissa, pelo espírito de equipe e por suprirem com competência e dedicação meus momentos de ausência nos projetos. Agradeço pelo carinho, pelas palavras de incentivo durante todos esses meses e pelo prazer da convivência diária com pessoas tão especiais!

Aos membros da banca examinadora, Dra. Margareth Dalcolmo, Dr. Clemax Couto Sant’Anna e Dr. Moisés Palaci, pela disponibilidade em avaliar esse trabalho.

A todos os colegas do Laboratório de TB, em especial, a Paola, Luiz Guilherme, Pedro e Taline, pelo apoio, incentivo e pelos momentos de descontração!

A todos os funcionários do NDI, em especial ao Sr. Eliseu, Sr. Geraldo e Canal, pela companhia e disponibilidade durante as visitas às casas dos pacientes.

Aos Programas de Controle de Tuberculose (PCT) dos municípios de Vitória, Vila Velha e Cariacica. Em especial ao PCT do município da Serra! Camila, Neuza, Fabiana, Angela, Alessandra, Rose, Dra. Ciléia e Dra. Sandra: obrigada por me receberem de forma tão acolhedora e permitirem que eu fizesse parte, mesmo que indiretamente, da rotina do serviço.

Aos colegas de turma do mestrado 2013/01. Foi muito bom vivenciar essa oportunidade de grande aprendizagem com vocês. A diversidade do nosso grupo nos enriqueceu!

À minha família, especialmente à Tia Magda, pelo carinho de sempre e pelo apoio durante toda a realização desse trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)
pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao NDI, por viabilizar todo recurso necessário para o desenvolvimento deste trabalho.

A todos os pacientes que voluntariamente aceitaram participar desta pesquisa e pela confiança depositada em nossa equipe.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização e conclusão deste trabalho, minha eterna gratidão!!!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisa admiráveis”.

José de Alencar

Resumo

RESUMO

Introdução: Uma das principais características do *M. tuberculosis* (Mtb) refere-se a sua capacidade de produzir infecção latente. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que dois bilhões de pessoas estejam infectadas pelo bacilo da tuberculose, e que, somente 10% dessas, desenvolvem doença ativa. Até recentemente o único exame laboratorial disponível para o diagnóstico da infecção latente pelo Mtb era a prova tuberculínica (PT). Entretanto, algumas de suas limitações estimularam o desenvolvimento de ensaios de liberação de interferon-gama por linfócitos T em resposta ao desafio de antígenos sintéticos específicos do Mtb (ESAT-6, CFP-10 e TB7.7). O objetivo do nosso estudo foi avaliar a concordância entre a prova tuberculínica e o teste QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube*, no diagnóstico da infecção latente pelo Mtb, em crianças e adolescentes, contatos domiciliares de casos índices com doença pulmonar bacilífera. **Métodos:** Estudo comparativo, conduzido na Região Metropolitana de Vitória-ES, no período de Março de 2008 a Outubro de 2013. Dados clínicos, demográficos e epidemiológicos foram coletados de todos os participantes. A infecção latente pelo Mtb foi mensurada através da PT e do QFT-GIT. Definiu-se latência através da positividade da PT (induração ≥ 10 mm) e do QFT-GIT (controle negativo ≤ 8.0 UI/mL, Antígeno TB menos controle negativo ≥ 0.35 UI/ml e $\geq 25\%$ do valor do controle negativo). Os voluntários da pesquisa foram avaliados pelos dois testes entre oito a dez semanas após a identificação dos respectivos casos índices. O teste Kappa foi utilizado na comparação dos resultados dos testes para avaliação da concordância entre eles. Os fatores associados com a positividade de ambos os testes na análise bivariada ($p \leq 0,30$) foram incluídos no modelo multivariado (regressão logística), sendo calculadas as razões de chance (OR) e os IC95%. **Resultados:** Foram arrolados 291 participantes. A concordância global entre os resultados da PT e do QFT-GIT foi elevada (87,6%) - κ 0,75 [IC 95%: 0,63-0,86]. Nos indivíduos com idade ≤ 5 anos a concordância foi ainda maior (93,65%) - κ 0,87 [IC 95%: 0,63-1,12]. Não houve associação estatisticamente significativa entre a presença de cicatriz ao BCG e a positividade dos dois testes. Houve uma correlação positiva entre o tamanho da induração da PT e probabilidade de positividade do QFT-GIT. **Conclusão:** Não há vantagem na utilização do QFT-GIT em relação à PT. O segundo mês após a

identificação do caso índice seria o tempo recomendado para a realização dos testes em questão.

Palavras-chave: Tuberculose latente, crianças, prova tuberculínica, interferon-gama.

Abstract

ABSTRACT

Background: One of the main characteristics of *M. tuberculosis* (Mtb) is its capacity to produce latent infection. The World Health Organization (WHO) estimates that 2 billion people are infected by this bacillus, only 10% of whom develop active disease. Until recently the tuberculin skin test (TST) was the only test available for the diagnosis of latent infection. However, because of its potential limitations an effort was made to develop a more accurate method to diagnose latent tuberculosis. The interferon-gamma release assays (IGRA's) were the result. These tests measure the interferon-gamma production by T-lymphocytes in response to a challenge of three synthetic antigens, specific for Mtb (ESAT-6, CFP-10 e TB7.7). The objective of our study was to evaluate the performance of the TST and the QuantiFERON[®]-TB Gold assay-in-tube (QFT-GIT), for the diagnostic of latent Mtb infection in children and adolescents identified as household contacts of smear positive pulmonary Mtb index cases. **Methods:** This was a comparative study conducted in the Metropolitan area of Vitória, Espírito Santo, Brazil from March 2008 through October 2013. Clinical, demographic and epidemiological data were collect from all participants. We defined latency as a positive TST (induration ≥ 10 mm) or a positive QFT-GIT test (Nil ≤ 8.0 IU/ml, TB Antigen minus Nil ≥ 0.35 IU/ml and $\geq 25\%$ of Nil value). Both tests were performed in each volunteer between eight and ten weeks after the identification of the respective index cases. Concordance, as defined by kappa testing, was used to compare the results of the two methods of diagnosing latency. The factors associated with positivity of both tests in bivariate analysis ($p \leq 0.30$) were included in the multivariate model (logistic regression), and the odds ratios (OR) and 95%CI were calculated. **Results:** 291 subjects were enrolled in the study. The global concordance between TST and QFT-GIT was high (87,6%) - κ 0.75 [CI 95%: 0.63-0.86]. However in children age ≤ 5 years the concordance was even higher (93.65%) - κ 0.87 [CI 95%: 0,63-1,12]. The presence of BCG scar was not statistically associated with tests positivity. There was a positive correlation between the size of TST induration and the probability of a positive QFT-GIT. **Conclusion:** There was no advantage in the use of QFT-GIT in relation to the TST. We recommend the two-month timeframe after the identification of the index case to perform the tests in the household contacts.

Key words: Latent tuberculosis infection, children, Tuberculin Skin Test, interferon-gamma.

Listas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características demográficas dos 291 participantes do estudo.....	66
Tabela 2	Características nutricionais, clínicas e laboratoriais dos 291 participantes do estudo.....	66
Tabela 3	Características epidemiológicas de contato entre casos índices e seus respectivos contatos domiciliares.....	68
Tabela 4	Comparação da homogeneidade entre os indivíduos que completaram os procedimentos do estudo e aqueles excluídos precocemente.....	69
Tabela 5	Concordância entre os resultados da prova tuberculínica e do QuantiFERON®-TB Gold <i>in tube</i>	70
Tabela 6	Concordância entre o resultado do QuantiFERON®-TB Gold <i>in tube</i> em relação ao diâmetro de induração da prova tuberculínica.....	70
Tabela 7	Concordância entre os resultados da prova tuberculínica e do QuantiFERON®-TB Gold <i>in tube</i> de acordo com a faixa etária.....	71
Tabela 8	Análise da associação entre as variáveis demográficas, clínicas e epidemiológicas com os resultados da prova tuberculínica.....	72
Tabela 9	Modelo inicial – Regressão logística da associação entre as características demográficas, clínicas e epidemiológicas com os resultados da prova tuberculínica.....	73
Tabela 10	Modelo final – Regressão logística da associação entre as características demográficas, clínicas e epidemiológicas com os resultados da prova tuberculínica.....	74

Tabela 11	Análise da associação entre as variáveis demográficas, clínicas e epidemiológicas com os resultados do QuantiFERON®-TB Gold <i>in tube</i>	75
Tabela 12	Modelo inicial – Regressão logística da associação entre as características demográficas, clínicas e epidemiológicas com os resultados do QuantiFERON®-TB Gold <i>in tube</i>	76
Tabela 13	Modelo final – Regressão logística da associação entre as características demográficas, clínicas e epidemiológicas com os resultados do QuantiFERON®-TB Gold <i>in tube</i>	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Ciclo de infecção do <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	35
Figura 2	Procedimentos e etapas laboratoriais para execução do teste QuantiFERON®-TB Gold <i>in tube</i>	59
Figura 3	Fluxograma de seleção dos participantes do estudo.....	65

LISTA DE QUADROS

Quadro I	Escore de pontos para o diagnóstico de tuberculose pulmonar em crianças e adolescentes negativos à baciloscopia, proposto pelo Ministério da Saúde, 2010.....	31
Quadro II	Interpretação dos resultados possíveis de serem obtidos com a utilização do teste QuantiFERON [®] -TB Gold <i>in tube</i>	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS/SIDA	do inglês " <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i> " ou Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
BAAR	Bacilo Álcool-Ácido Resistente
BCG	Bacillus Calmette-Guérin, variante atenuada do <i>Mycobacterium bovis</i>
CDC	do inglês " <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> "
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CFP-10	do inglês " <i>Culture Filtrate Protein 10</i> "
CONEP	Comitê Nacional de Ética em Pesquisa
CRF	do inglês " <i>Case Report Form</i> "
DP	Desvios padrão
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
ELISA	do inglês " <i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i> "
ES	Espírito Santo
ESAT-6	do inglês " <i>Early Secretory Antigenic Target 6</i> "
EUA	Estados Unidos da América
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HUCAM	Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes
IC	Intervalo de Confiança
IGRA	do inglês " <i>Interferon-gamma Release Assay</i> "
IMC	Índice de Massa Corporal
IFN-γ	Interferon-gama
ILTB	Infecção Latente pelo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
LG	Lavado Gástrico
mL	mililitros

mm	milímetros
Mtb	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MS	Ministério da Saúde
MNT	Micobactérias Não Tuberculosas
NDI	Núcleo de Doenças Infecciosas
nm	nanômetro
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	do inglês “ <i>Odds Ratio</i> ”
PPD	do inglês “ <i>Purified Protein Derivative</i> ”
PPD-S	do inglês “ <i>Purified Protein Derivative Standard</i> ”
PT	Prova Tuberculínica
QFT-GIT	QuantiFERON [®] -TB Gold <i>in tube</i>
TB	Tuberculose
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TL	Tuberculose Latente
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo
UI	Unidades internacionais
UT	Unidades de Tuberculina
WHO	do inglês “World Health Organization”
κ	Kappa
μL	microlitros
°C	Grau Celsius

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	26
1.1	Importância Epidemiológica da Tuberculose e Relevância do Tema.....	27
1.2	Dificuldades diagnósticas da Tuberculose na infância.....	29
1.3	Propriedades do <i>Mycobacterim tuberculosis</i> de importância clínica.....	32
1.4	Transmissão do <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	33
1.5	Patogênese.....	34
1.6	Infecção Latente pelo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (ILTB).....	36
1.7	Testes diagnósticos para detecção da infecção por <i>M. tuberculosis</i>	41
	1.7.1 Prova Tuberculínica.....	41
	1.7.2 Ensaios de liberação de Interferon-gama.....	45
2	OBJETIVOS.....	50
2.1	Geral.....	51
2.2	Específicos.....	51
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	52
3.1	Local e Período do Estudo.....	53
3.2	Descrição do Estudo.....	53
3.3	Aspectos Éticos.....	54
3.4	População do Estudo.....	54
	3.4.1 Seleção dos Participantes do Estudo.....	55
	3.4.2 Critérios de Inclusão.....	55
	3.4.3 Critérios de Exclusão.....	55
3.5	Coleta de Dados.....	56
	3.5.1 Avaliação clínica e epidemiológica.....	56

3.5.2	Avaliação da Cicatriz BCG.....	56
3.5.3	Avaliação do Estado Nutricional.....	56
3.6	Procedimentos do Estudo.....	57
3.6.1	Prova Tuberculínica.....	57
3.6.2	Detecção e Quantificação de Interferon-gama (IFN- γ) pelo QuantiFERON [®] -TB Gold <i>in tube</i>	58
3.6.2.1	Coleta e incubação de sangue para o teste.....	58
3.6.2.2	Teste Imunoenzimático (ELISA).....	60
3.7	Codificação e Armazenamento do Dados.....	61
3.8	Análise dos Dados.....	61
4	RESULTADOS.....	64
5	DISCUSSÃO.....	78
6	CONCLUSÕES.....	84
7	REFERÊNCIAS.....	86
	ANEXOS.....	101
ANEXO A	Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.....	102
ANEXO B	Aprovação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)..	103
ANEXO C	Termo de Assentimento - Crianças de 7 a 17 anos.....	106
ANEXO D	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - Responsável pelo contato domiciliar menor de 18 anos.....	108
ANEXO E	Instrumento de coleta de dados.....	113

Introdução e

Justificativa

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

1.1 Importância Epidemiológica da Tuberculose e Relevância do Tema

A tuberculose (TB) foi declarada em 1993 uma emergência de saúde pública global pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Desde então, a despeito da queda progressiva de sua incidência, a TB ainda figura como uma das mais importantes causas de morbidade e mortalidade dentre as doenças infecciosas nos países em desenvolvimento (WHO, 2012).

Estima-se que um terço da população mundial, aproximadamente 2 bilhões de pessoas, estejam infectadas pelo bacilo da tuberculose. Em 2012 o número de casos novos da doença foi estimado em 8,7 milhões. Destes, 530 mil (6%) ocorreram em crianças, com mortalidade estimada de 75.000 casos (14%), excluindo-se os casos da co-infecção com o vírus da imunodeficiência humana - HIV (WHO, 2012; WHO, 2013).

No Brasil, calcula-se que, do total dos casos notificados, 15% ocorram em menores de quinze anos, apesar dos dados oficiais mostrarem índices inferiores (SANT'ANNA *et al.*, 2002). No Estado do Espírito Santo, dos 1.313 casos notificados no ano de 2013, 43 (3,3%) eram menores de quinze anos (DATASUS, 2014).

A transmissão da doença ocorre geralmente entre contatos domiciliares ou grupos de pessoas com contato próximo a um “caso índice” de TB pulmonar bacilífera. Estima-se que nesta situação, a infecção ocorra em 25% a 50% dos contactantes dos quais 5 a 10%, se adultos, irão adoecer ao longo de 2 anos, contra 43% em menores de 1 ano, 24% em crianças de 1 a 5 anos e 15% entre adolescentes (11 a 15 anos). Estes percentuais evidenciam um risco de adoecimento maior em crianças em relação aos adultos (SHAW & WYNN-WILLIAMS, 1954; GRZYBOWSKI, BARNETT, STYBLO, 1975; HOUWERT *et al.*, 1998).

O contato de um indivíduo susceptível com um caso índice de TB pulmonar pode resultar em diferentes desfechos uma vez que a infecção depende da virulência do bacilo, do inóculo e da resistência natural ou adquirida do hospedeiro (DANNENBERG, 1989; LURIE, 1964).

Apesar da transmissão da TB ter sido documentada mais de uma década antes da descoberta do seu agente etiológico e dos estudos sobre a doença terem resultado em 2 prêmios Nobel (Robert Koch - 1905 pela descoberta do bacilo, e Selman Abraham Waskman - 1952 pela descoberta da estreptomicina), ainda existem importantes lacunas no conhecimento da tuberculose. Talvez a principal delas esteja relacionada ao evento infecção/progressão para doença e ao fenômeno de latência do *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Este momento fisiopatológico inicia-se após a primo-infecção. A partir daí, o bacilo pode ser eliminado ou contido por células de defesa do hospedeiro, tornando-se “latente”. Neste caso, o indivíduo permanece assintomático, com bacilos viáveis que podem ser reativados causando doença (STARKE & COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES, 2014).

Até recentemente, o único exame disponível para o diagnóstico da infecção latente pelo Mtb era a prova tuberculínica (PT). Embora muito útil na prática clínica, a PT possui algumas desvantagens: **a)** resultados falso-positivos decorrentes de vacinação recente pelo Bacilo de Calmette-Guerin (BCG) ou da exposição à micobactérias ambientais não tuberculosas (MNT), **b)** efeito booster em testes seriados e **c)** resultados falso-negativos em casos de imunodepressão como p.ex. na Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) e uso de drogas imunossupressoras (TIDJANI, AMEDOME, TEN DAM, 1986). Essas limitações tem impacto direto nas suas principais indicações: **a)** diagnóstico complementar da doença e **b)** instituição de quimioprofilaxia na infecção recente (STARKE, 1993).

Na última década, a demanda por novos testes para o diagnóstico da tuberculose latente (TL) fez surgir os ensaios de liberação de interferon-gama (IGRAs), produzido por linfócitos T em resposta a antígenos específicos do Mtb (ESAT-6 e CFP-10). Esses testes tem-se mostrado mais sensíveis e específicos que o TT na identificação da infecção latente pelo Mtb e na doença ativa (STARKE & COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES, 2014). Além disso, eles teriam como vantagens sobre a PT, sua realização ex-vivo, a eliminação do efeito *booster*, o fato

do paciente não necessitar de uma visita de retorno para leitura e a ausência de efeitos adversos em pacientes reatores fortes (>15mm). Apesar destas vantagens, estes testes apresentam alto custo, necessitam de pessoal treinado e laboratórios de média complexidade para sua realização (MENZIES, PAI, COMSTOCK, 2007). Embora os testes baseados na liberação de interferon-gama representem um avanço na área, sua utilização ainda não é consenso em populações pediátricas, principalmente na faixa etária inferior a 5 anos (CDC, 2014).

Vale a pena ressaltar que os resultados de ambos os testes dependem de imunidade mediada por células, que indicam sensibilização imunológica do hospedeiro ao antígeno de *M. tuberculosis*. Portanto, eles não tem utilidade no diagnóstico da doença, que deve ser pautado na sintomatologia clínica, exames radiológicos e microbiológicos. A positividade de ambos os testes indicam provável infecção latente (STARKE & COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES, 2014).

O uso da isoniazida reduz substancialmente o risco de desenvolver tuberculose naqueles indivíduos que iriam progredir para doença. Decorre disto a importância dada atualmente aos testes utilizados para o diagnóstico de infecção latente e aqueles que possam identificar marcadores de progressão para a doença. A descoberta destes marcadores beneficiaria a grande maioria dos indivíduos tratados desnecessariamente para a TL (STARKE & COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES, 2014).

1.2 Dificuldades diagnósticas da Tuberculose na infância

Recentemente a OMS estabeleceu uma meta ambiciosa que prevê a eliminação da tuberculose do mundo em 2035 (WHO, 2015). Dentre as prioridades está a tuberculose infantil cujo diagnóstico é mais difícil de ser realizado se comparado ao do adulto.

Em 2010, os 22 países com alta carga da doença acumulavam cerca de 4,5 milhões de casos novos. No entanto, somente 3,5% (0,1-15%) desses, ocorreram em crianças. Entretanto, a estimativa de notificação era de aproximadamente 11%, sugerindo que, naquele ano, cerca de 340.000 casos não haviam sido

diagnosticados (PEREZ-VELEZ & MARAIS, 2012).

A TB em crianças é considerada um evento sentinela, indicando infecção recente de alguma fonte comunitária, uma vez que crianças raramente são fontes primárias de infecção (FEJA & SAIMAN, 2005; SZTAJNBOK *et al.*, 2009).

O diagnóstico da doença em crianças e adolescentes, ao contrário dos adultos, nem sempre é possível, como discutiremos a seguir, além de possuir um agravante pelo fato da infecção possuir maior risco de progressão para doença (LEWINSOHN *et al.*, 2004; FEJA & SAIMAN, 2005; SZTAJNBOK *et al.*, 2009).

A ausência ou inespecificidade dos sinais e sintomas da TB na infância dificulta a suspeição clínica da doença que acaba postergando o seu diagnóstico. O quadro clínico pode variar desde formas assintomáticas até formas graves disseminadas, com emagrecimento importante e rápida evolução para o óbito (HOUWERT *et al.*, 1998). A dificuldade para a coleta de escarro nesta faixa etária é bem conhecida, assim como sua baixa sensibilidade ao exame direto (20%) nos casos em que é possível obter o espécimen (SANT'ANNA & HIJJAR, 2007). A baixa positividade da cultura do escarro ou do lavado gástrico (10% a 40%) estão pautados, além de problemas técnicos da coleta dos mesmos, na própria patogênese da doença nesta faixa etária que é paucibacilar (DONALD, 2000; MARCONDES *et al.*, 2003).

O exame radiológico do tórax, apesar de pouco específico, é um dos pilares para o diagnóstico da doença (FARHART, CARVALHO, CARVALHO, 1999). Entretanto, muitas vezes os achados radiológicos são insuficientes para justificar o início do tratamento por si só (MARCONDES *et al.*, 2003).

Pelo exposto acima depreende-se que o diagnóstico da TB em crianças e adolescentes deve considerar um conjunto de fatores que necessariamente incluam: história epidemiológica de contato com um caso índice bacilífero, interpretação do resultado da PT e/ou QuantiFERON e quadro clínico-radiológico (MARAIS *et al.*, 2006). É através da combinação desses achados que sistemas diagnósticos foram estabelecidos utilizando escores de pontuação, classificação diagnóstica ou algoritmos diagnósticos (MIGLIORI *et al.*, 1992; SOMU *et al.*, 1995; DONALD, 2000; SANT'ANNA, ORFALIAS, MARCH, 2003). Existem atualmente diversos sistemas de pontuação para o diagnóstico da TB infantil propostos nos últimos anos por

pesquisadores ou órgãos ligados à área da saúde de diversos países (STEGEN, JONES, KAPLAN, 1969; NAIR & PHILIP, 1981; TIDJANI, AMEDOME, TEN DAM, 1986; EDWARDS, 1987; MIGLIORI *et al.*, 1992; FOURIE *et al.*, 1998; SANT'ANNA, SANTOS, FRANCO, 2004). Alguns destes sistemas não se aplicam a países de alta endemicidade que utilizam a vacinação com BCG, como é o caso do Brasil, e outros foram feitos para países ou regiões onde a infraestrutura de saúde é precária ou quase inexistente (MACIEL, 2004).

Em 2002, o Ministério da Saúde (MS) do Brasil adotou um sistema de pontuação próprio, adaptado de uma compilação de sistemas disponíveis na literatura, para ser aplicado ao diagnóstico da TB em crianças com suspeição da doença e baciloscopia negativa. Em revisão recente sobre o assunto, Pearce e colaboradores (2012) apontam o sistema de pontuação por escores adotado no Brasil como aquele que possui o maior número de estudos de validação, com resultados consistentes de sensibilidades e especificidades. Em 2010, o sistema brasileiro (Quadro 1) sofreu alterações em virtude dos novos pontos de corte da PT adotados pelo MS (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011) e tem-se mostrado uma ferramenta muito útil no diagnóstico da doença no País.

Vale destacar novamente que, a detecção precoce, a terapia preventiva e o tratamento curativo, são medidas importantes para redução da morbidade e mortalidade associadas à TB infantil. Isto é possível se as ferramentas disponíveis atualmente forem utilizadas de forma pragmática e racional, enquanto aguardamos novos e melhores métodos diagnósticos.

Quadro I. Escore de pontos para o diagnóstico de tuberculose pulmonar em crianças e adolescentes com baciloscopia negativa. Ministério da Saúde, 2010.

Quadro clínico-radiológico		Contato	PT vs. BCG	Estado nutricional
Sintomas há > 2 semanas +15 pontos	Alteração do Rx há > 2 semanas +15 pontos	Contato próximo com adulto tuberculoso nos últimos 2 anos +10 pontos	≥ 10 mm em vacinados há < 2 anos ou ≥ 5 mm em vacinados há > 2 anos ou não vacinados +15 pontos	Desnutrido grave +5 pontos
Assintomático ou sintomas há < 2 semanas 0 pontos	Alteração do Rx há < 2 semanas +5 pontos			
Melhora com antibiótico comum ou sem terapêutica -10 pontos	Rx normal -5 pontos	Contato ocasional ou ausente 0 pontos		Peso ≥ P10 ou desnutrido não grave 0 pontos
≥ 40 pontos - diagnóstico muito provável 30-35 pontos - diagnóstico possível ≤ 25 pontos - diagnóstico pouco provável				

Fonte: ROSSONI; ROSSONI; RODRIGUES, 2013.

1.3 Propriedades do *M. tuberculosis* de importância clínica

O gênero *Mycobacterium* compreende pequenos microrganismos em forma de bastão ou ligeiramente curvos, imóveis, aeróbios estritos, não formadores de esporos e não capsulados. A composição da parede celular, composta por uma variedade de lipídeos complexos, torna esses microrganismos distintos dos demais gêneros bacterianos (WAYNE & KUBICA, 1986).

A parede celular das micobactérias é constituída principalmente por um complexo de ácidos micólicos, arabinogalactanas e peptídeoglicano, glicopeptídeos, como a lipoarabinomanana, ancorados à membrana plasmática. Estes ácidos graxos formam uma barreira periférica hidrofóbica que retém a fuccina, além de serem responsáveis pela resistência característica ao álcool-ácido (BAAR) durante a técnica de coloração de Ziehl-Neelsen (WAYNE & KUBICA, 1986; ARAUJO *et al.*, 2008).

Apesar de existirem mais de uma centena de espécies no gênero *Mycobacterium*, apenas o *M. leprae*, e as espécies pertencentes ao complexo *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, bacilo da tuberculose humana, o *M. bovis*, agente etiológico da tuberculose bovina e o *M. africanum*, variedade africana com características fenotípicas intermediárias entre o *M. tuberculosis* e o *M. bovis*) são considerados estritamente patogênicos ao homem (COLLINS, GRANGE, YATES, 1997).

O *Mycobacterium tuberculosis* apresenta multiplicação lenta (16 a 24 horas) em temperaturas próximas a 37°C. Infecta macrófagos e outras células do organismo humano com predileção para os pulmões. É destruído por agentes físicos como o calor, raios ultravioleta e radiações ionizantes e não sobrevive por muito tempo no meio externo. À microscopia apresenta-se como bastonetes retos ou ligeiramente curvos medindo de 1 a 4 µm de comprimento por 0,2 a 0,6 µm de diâmetro. A parede celular do Mtb é importante para sua viabilidade, conferindo resistência à desidratação, proteção à agentes químicos e sua sobrevivência por anos dentro do granuloma formado pelo hospedeiro para conter a infecção (TEIXEIRA, ABRAMO, MUNK, 2007).

1.4 Transmissão do *M. tuberculosis*

Em 1868, 14 anos portanto antes da descoberta do bacilo da tuberculose por Robert Koch, o médico veterinário francês Jean Antoine Villemin comprovou a transmissibilidade da TB ao reproduzir a doença em coelhos inoculados com material caseoso obtido do pulmão de um paciente que fora a óbito pela doença. Entretanto a transmissão do bacilo por aerossóis só foi demonstrada 16 anos mais tarde, por Robert Koch (KOCH apud WELLS, 1955).

O conceito atual da transmissão do *M. tuberculosis* por aerossóis iniciou-se com os trabalhos dos médicos William Firth Wells e Richard Riley em 1930 (WELLS, 1941). Wells estabeleceu o conceito atualmente vigente da transmissão baseada na existência de uma partícula microscópica medindo de 1-5 micra, contendo dois ou três bacilos viáveis envolvidos por secreção pulmonar desidratada, denominadas “**núcleos de Wells**”. Somente esses núcleos, gerados pela tosse, fala ou espirro, com seu diminuto diâmetro, seriam capazes de atingir as vias áreas distais (bronquíolos e alvéolos terminais) (SULTAN *et al.*, 1960). As partículas maiores seriam levadas pelas correntes de ar ou precipitar-se-iam nas superfícies. As de tamanho médio ficariam retidas na mucosa do trato respiratório superior sendo removidas dos pulmões através da tosse ou movimento muco-ciliar. Os trabalhos pioneiros de Willian Wells foram confirmados posteriormente por diversos estudos epidemiológicos sobre transmissão da doença em hospitais, prisões, dormitórios e outros ambientes (HOUK *et al.*, 1968; Di PERRI *et al.*, 1993; KANTOR, POBLETE, PUSATERI, 1988; CDC, 1993; NARDELL *et al.*, 1986). Desses estudos, talvez o mais notável tenha sido o que descreve um surto de TB a bordo do submarino Richard E. Byrd onde um tripulante com TB pulmonar cavitária infectou 139 dos 308 tripulantes (HOUK *et al.*, 1968).

Desse modo, assim que atingem as vias aéreas distais dos pulmões, os bacilos podem seguir um dos três caminhos: **a)** destruição antes da infecção; **b)** infecção seguida de latência do bacilo traduzida clinicamente apenas pela positividade da prova tuberculínica, que pode evoluir após anos para doença clínica (re-infecção endógena); **c)** infecção seguida de rápida multiplicação do bacilo com desenvolvimento de TB primária. Existe um equilíbrio dinâmico nas duas últimas

possibilidades que podem apresentar os seguintes desfechos: evolução tardia para doença ou longo período de infecção latente assintomática, ou ainda, doença progressiva e fatal (DANNENBERG, 1994).

Além da presença do bacilo, outros dois fatores são importantes na transmissão da doença: **a fonte de infecção** (inóculo e viabilidade dos bacilos no escarro) e **as condições ambientais** (densidade das partículas infectantes no volume do ar local, ventilação, umidade do ar, exposição à luz solar e irradiação ultra-violeta) (DANENBERG, 1989).

Do ponto de vista epidemiológico, o indivíduo com a forma pulmonar bacilífera da TB, constitui a principal fonte de transmissão da doença (TARANTINO & LEITÃO DE OLIVEIRA, 1990). São importantes também para a transmissão a frequência e intensidade da tosse, a capacidade do indivíduo de gerar aerossóis, virulência do bacilo e intensidade e frequência do contato (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002; JONES-LÓPEZ *et al.*, 2013; JONES-LÓPEZ *et al.*, 2014).

1.5 Patogênese

Os pulmões são a porta de entrada do *Mycobacterium tuberculosis* no organismo na quase totalidade dos casos. Os bacilos que chegam aos alvéolos através do ar inspirado são rapidamente fagocitados por macrófagos alveolares e células dendríticas residentes (Figura 1). A partir dos pulmões o *Mycobacterium tuberculosis* pode produzir lesões em praticamente todos os órgãos do corpo humano. Entretanto, as mais frequentes são aquelas encontradas nos pulmões e linfonodos. Independente do órgão acometido a lesão fundamental induzida pelo bacilo em indivíduos com resposta imune intacta é sempre a mesma: um granuloma epitelióide típico, também denominado de tubérculo. Esse granuloma é constituído por macrófagos que sofreram transformação epitelióide, células gigantes multinucleadas originadas da fusão de macrófagos e, um halo periférico constituído por mononucleares, incluindo linfócitos B, linfócitos T e monócitos. Frequentemente, a necrose caseosa inicia-se na sua parte central, podendo se estender a todo granuloma e está relacionada à hipersensibilidade tardia mediada por células. O granuloma se cura por fibrose, a qual progride da periferia para o centro, não sendo

raro estar associada à calcificação do tecido necrótico. Essa calcificação ocorre com maior frequência nas primo-infecções em crianças (DIETZE *et al.*, 2009).

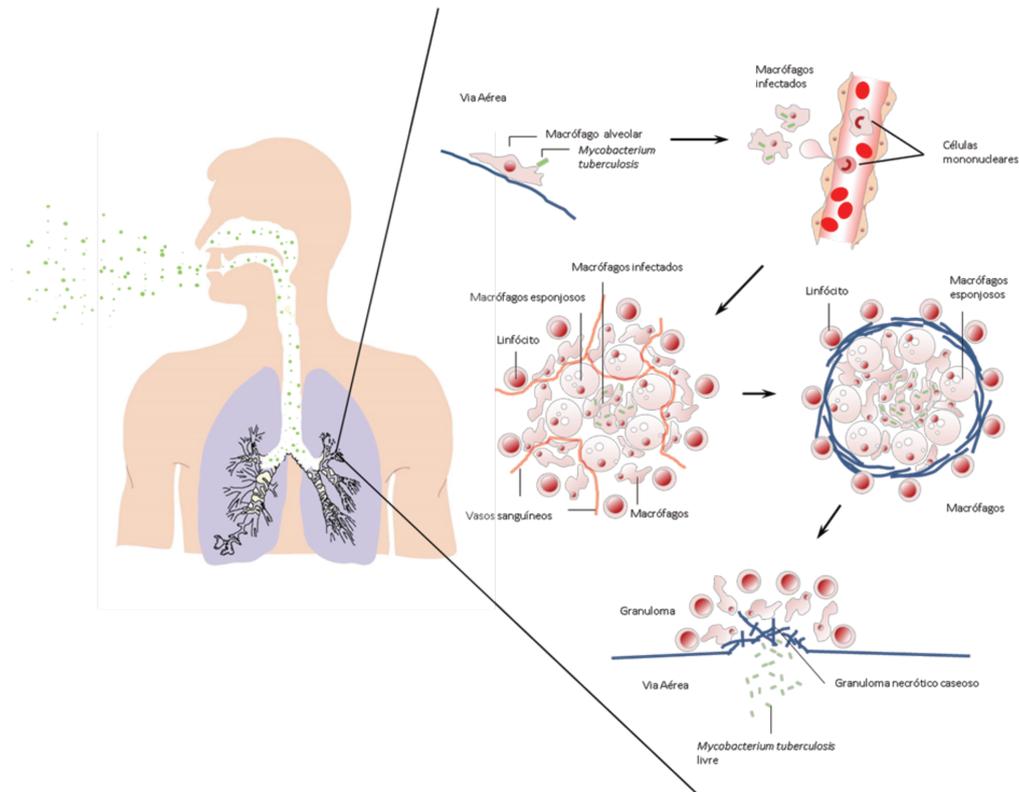


Figura 1. Ciclo de infecção do *Mycobacterium tuberculosis*. Os macrófagos alveolares fagocitam as bactérias inaladas. Após fagocitose são recrutadas para a zona de infecção células do sistema imune inato e adaptativo dando origem a formação de um granuloma. Os bacilos podem ser contidos no interior destas estruturas por longos períodos de tempo. Contudo, quando o sistema imune enfraquece os bacilos reiniciam a replicação, e m granuloma necrótico caseoso forma-se permitindo a libertação de Mtb para as vias aéreas.

Fonte: Adaptado, RUSSELL, 2007.

No entanto a resposta inflamatória inicial que ocorre nos alvéolos ainda é pouco conhecida, em especial no que se refere a mecanismos inatos de defesa, que em última análise definem ou não o sucesso da eliminação precoce dos bacilos (HOUBEN, NGUYEN, PIETERS, 2006). Como mencionado, 5-43% dos indivíduos imunocompetentes, dependendo da faixa etária, desenvolvem tuberculose clínica nos primeiros dois anos após a infecção (SHAW & WYNN-WILLIAMS, 1954; GRZYBOWSKI, BARNETT, STYBLO, 1975; HOUWERT *et al.*, 1998). No restante,

que compreende a maioria dos infectados, ou o bacilo é eliminado ou permanece latente nos tecidos (AHMAD, 2011). Este fato por si demonstra a eficácia da resposta imune inata e adquirida em controlar a infecção.

A resposta adaptativa do tipo Th₁ é fundamental no controle da infecção causada pelo *M. tuberculosis*. Se ela for eficiente, os granulomas contendo o Mtb regridem através de processo fibrótico e calcificação, não havendo progressão para doença. Por outro lado se houver um predomínio da resposta Th₂ sobre a Th₁, ocorrerá um aumento da necrose nos granulomas com disseminação dos bacilos, ampliando a área inflamada com formação de novos granulomas e novas áreas de necrose, que irão em última análise progredir para nódulos caseificados e cavernas (lesões escavadas). A progressão da necrose irá favorecer também a disseminação do bacilo por via linfática e sanguínea para outros órgãos. Admite-se que mesmo em lesões iniciais que se curam precocemente no pulmão, ocorra disseminação do bacilo que poderá permanecer latente em outros tecidos, uma vez que o processo de fibrose das lesões é insuficiente para circunscrevê-las, isolando-as (DIETZE *et al.*, 2009; AHMAD, 2011).

Não é objetivo deste trabalho descrever em detalhes a tuberculose doença, razão pela qual nesta introdução daremos destaque a infecção latente pelo *M. tuberculosis*.

1.6 Infecção Latente pelo *Mycobacterium tuberculosis* (ILTB)

A ILTB pode ser definida pela presença de uma prova tuberculínica positiva em um indivíduo que não apresenta sinais e sintomas clínicos ou radiológicos da doença. Nesta condição, os bacilos são indetectáveis em espécimes clínicos, o que sugere uma baixa carga bacilar (DUTTA & KARAKOUSIS, 2014).

Os bacilos podem ficar latentes por toda a vida e nunca causar doença. Esse tipo de infecção acontece quando o sistema imune do hospedeiro monta uma resposta adaptativa capaz de controlar, mas não de eliminar a infecção. Essa resposta é caracterizada por inflamação granulomatosa com necrose caseosa, rica em bacilos, que se cura por fibrose e calcificação. Admite-se que bacilos viáveis,

latentes, possam permanecer nessas lesões “aparentemente” curadas. Como pode ocorrer disseminação hematogênica e/ou linfática precoce, os bacilos podem se localizar em outros órgãos, mantendo-se latentes, independentemente de ter ocorrido reação inflamatória. Nesses casos admite-se que os bacilos possam persistir em alguns tecidos, especialmente no adiposo (NEYROLLES *et al.*, 2006). Porém, os locais exatos de persistência dos bacilos ainda são uma incógnita (DUTTA & KARAKOUSIS, 2014).

A reativação da TL pode ocorrer por alteração da resposta imune, levando ao aparecimento dos sinais e sintomas da doença, evento conhecido como reativação endógena.

Indivíduos com infecção latente, apesar de assintomáticos e não contagiosos, representam um grande reservatório e podem permanecer desta forma por meses, anos ou mesmo a vida inteira, tornando os estudos sobre os mecanismos de transmissão da doença ainda mais difíceis de serem compreendidos (MATHEMA *et al.*, 2006).

Como mencionado acima, uma das características mais marcantes do *M. tuberculosis* é a sua capacidade de produzir infecção latente. Desde a primeira grande epidemia da tuberculose durante o período de industrialização da Europa no século 19 até os dias atuais, um imenso reservatório humano de infecção latente foi-se acumulando até atingir os atuais 2 bilhões de indivíduos infectados, 1/3 da população mundial (CARDONA & RUIZ-MANZANO, 2004; WHO, 2012).

As primeiras evidências sobre a existência da TL surgiram nas décadas de 40 e 50, com o início do tratamento da doença com a combinação de duas das três drogas disponíveis à época: a estreptomicina, o ácido *p*-aminosalicílico e a isoniazida. Observou-se que um percentual dos pacientes tratados apresentavam recidiva tardia da doença com cepa sensível aos medicamentos utilizados, o que gerou a teoria da latência do bacilo (FOX, ELLARD, MITCHISON, 1999). Ensaio clínicos subsequentes sobre profilaxia da TB trouxeram mais luz a essa teoria. Nestes estudos, conduzidos pelo Comitê de Profilaxia da “International Union Against Tuberculosis”, a isoniazida foi administrada em pacientes com TL por períodos de 3, 6 e 12 meses, resultando em índices de eficácia de não adoecimento de 32%, 69% e 93% respectivamente. Como a isoniazida exerce sua ação

bactericida através da inibição da síntese de ácidos micólicos, seu efeito só seria possível na presença de algum nível de metabolismo e multiplicação celular, sugerindo que pelo menos parte dos bacilos responsáveis pela TL estaria em constante multiplicação.

Os estudos sobre a história natural da tuberculose pulmonar reforçaram ainda mais a teoria da latência. O complexo primário ocorre via de regra nos lobos basais dos pulmões e nos gânglios linfáticos hilares, e mais raramente nas regiões apicais dos pulmões, e seriam decorrentes do baixo inoculo no momento da infecção, geralmente 1-5 bacilos. Corroboram estes dados, achados de necropsia, nas quais 66% dos complexos primários calcificados localizavam-se nos dois terços inferiores dos pulmões e somente 12% em região apical. Como mencionado anteriormente, o complexo primário evolui sem sintomas e a cura espontânea ocorre em 95% dos indivíduos. A tuberculose “pós-primária” é mais frequente na região apical e é aceita por muitos como consequência da reativação de uma TL (LUCAS, 1998). Neste caso aceita-se que a disseminação hematogênica ou linfática que pode ocorrer por ocasião da infecção primária, alojaria bacilos em regiões “abrigadas” dos pulmões, p.ex as regiões supraclaviculares, onde o sistema imune teria dificuldade em destruí-los. Os bacilos permaneceriam então em estado de latência aguardando um desequilíbrio transitório do sistema imune (infecções virais, stress, etc) para incrementar a multiplicação bacilar. Com a restauração da imunidade, o hospedeiro tentaria conter sem sucesso a multiplicação, através da formação de granulomas que evoluiriam com necrose caseosa e cavitação (BALASUBRAMANIAN *et al.*, 1994; GRZYBOWSKI & ALLEN, 1964; STEAD & LOFGREN, 1983).

Diversos fatores associados ao *M. tuberculosis* e ao hospedeiro já foram implicados no controle da tuberculose latente ou na sua ativação. Faremos a seguir uma breve revisão somente dos fatores relacionados ao hospedeiro, nos atendo aqueles, cujas hipóteses científicas incluem não somente evidências geradas em estudos experimentais, mas também e principalmente sua correlação com achados clínicos em pacientes infectados com Mtb que tenham ou não evoluído para doença ativa.

- Linfócitos T CD4⁺

Do ponto de vista imunológico a presença de uma resposta Th₁ eficiente é um fator “sine qua non” para a contenção do *M. tuberculosis* e neste aspecto os linfócitos T CD4⁺ tem um papel fundamental. Este papel é mais evidente em pacientes coinfetados pelo vírus HIV onde uma correlação inversa entre o número destas células e o risco de adoecimento por tuberculose está bem demonstrado (GELDMACHER *et al.*, 2008). Entretanto, o mecanismo exato através do qual estas células previnem a reativação da TL, além da produção de IFN- γ e ativação macrofágica, ainda não está totalmente esclarecido.

- Linfócitos T CD8⁺

O *M. tuberculosis* também induz uma resposta de linfócitos T CD8⁺ tanto em humanos quanto em modelos animais (BEHAR, 2013). Ao contrário dos linfócitos T CD4⁺, o papel dos linfócitos T CD8⁺ no controle da tuberculose ainda carece de evidências clínicas. O efeito citotóxico destas células é exercido através de diferentes mecanismos que incluem apoptose pela via Fas-FasL, uma proteína de membrana tipo II de 40 kDa da família do fator de necrose tumoral (TNF), e indução de morte celular pela via da perforina e granulinas. As granulinas possuem ação microbicida intracelular contra o *M. tuberculosis* (STENGE *et al.*, 1988), além de induzir apoptose nos macrófagos parasitados. Além de atividade citolítica, estes linfócitos também produzem citocinas pró inflamatórias (TNF- α e IFN- γ), importantes no controle da infecção pelo *M. tuberculosis* (LALVANI *et al.*, 1998; LI *et al.*, 1997).

- Fator de Necrose Tumoral - α (TNF- α)

Paralelamente ao aumento do uso de inibidores de TNF- α no tratamento de pacientes com doenças inflamatórias (artrite reumatoide, psoríase, doença de Crohn, espondilite anquilosante e colite ulcerativa), observou-se um incremento na incidência de Tuberculose pulmonar e extrapulmonar nestes indivíduos, inicialmente com o uso do Infliximab (anticorpo monoclonal quimérico humano/camundongo) e posteriormente com o uso de Etanercept (fusão da porção extracelular de dois receptores humanos do TNF- α ligados à porção FC da imunoglobulina humana IgG1) (KEANE *et al.*, 2001; MOHAN *et al.*, 2004). Estudos clínicos subsequentes mostraram que 44% *versus* 10% dos casos de TB associados ao uso do Infliximab e Etanercept respectivamente ocorriam no prazo de 3 meses após o início da terapia.

Sugeriu-se que os casos associados ao uso do Infliximab seriam decorrentes da ativação de TL e aqueles casos associados ao outro imunobiológico, resultantes da incapacidade de controlar uma infecção recém adquirida (WALLIS *et al.*, 2004; WALLIS *et al.*, 2005).

Nos EUA o número de casos notificados de tuberculose associados ao uso destes dois medicamentos é de 54 e 28/100.000 pacientes tratados respectivamente. Estudos recentes mostraram também que o risco de desenvolver tuberculose é maior nos pacientes tratados com anticorpos monoclonais (Infliximab e Adalimumab) quando comparado ao risco dos pacientes tratados com receptores solúveis anti-TNF- α (TUBACH *et al.*, 2009). Além de elucidar as bases biológicas da ação do TNF- α , os estudos clínicos forneceram uma evidência inequívoca da importância desta citocina no controle da infecção pelo *M. tuberculosis*.

- Interferon-gama (*IFN- γ*)

As evidências científicas sobre a importância do *IFN- γ* na proteção contra a infecção pelo *M. tuberculosis* não são tão robustas quanto aquelas relativas ao TNF- α , mas são sustentadas por alguns estudos em humanos. Newport e colaboradores (1996) mostraram que crianças que apresentavam mutação no gen do receptor 1 do *IFN- γ* , causando uma ausência de receptores para *IFN- γ* na superfícies de macrófagos e defeito funcional na produção (up-regulation) de TNF- α em resposta à estimulação por *IFN- γ* , desenvolviam infecções graves por micobactérias não patogênicas. Estudos posteriores realizados por Caccamo e colaboradores (2010) mostraram que indivíduos com TL possuíam níveis 15 vezes superiores de células TCD4 *IFN- γ* ⁺, IL-2⁺ e TNF- α ⁺ com fenótipo efetor e de memória em relação à pacientes com tuberculose ativa nos quais havia predomínio somente de células multifuncionais efectoras TCD4 *IFN- γ* ⁺, IL-2⁺ e TNF- α ⁺, sugerindo um papel importante do *IFN- γ* na TL.

Estudos em camundongos também ressaltam a importância do *IFN- γ* no controle da infecção por *M. tuberculosis*. Nestes estudos, resultados semelhantes foram obtidos por diferentes grupos de pesquisadores utilizando camundongos nocauteados para o gene do *IFN- γ* . Os animais, quando desafiados com *M.*

tuberculosis, não controlavam a infecção que se disseminava (COOPER *et al.*, 1993; FLYNN *et al.*, 1993; SCANGA *et al.*, 1999).

- Células T Reguladoras

As células T reguladoras (Treg) têm por ação a supressão ou diminuição de respostas imunes variadas e por isto tem recebido mais atenção de pesquisadores. Elas se caracterizam, em sua maioria, pela presença do fenótipo CD4⁺ CD25⁺ mas também podem ser CD8⁺ CD25⁻ (LARSON, SHAFIANI, URDAHL, 2013). Sua principal função efetora parece ser a expressão da proteína reguladora “Forkhead box P3” também conhecida como FoxP3 que atua na regulação de fatores de transcrição celular (FONTENOT, GAVIN, RUDENSKY, 2003). Guyot-Revol e colaboradores (2006) mostraram a presença aumentada de células Treg CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ no sangue ou nas lesões de pacientes com tuberculose ativa em relação a controles saudáveis, além do aumento da expressão da proteína FoxP3 em pacientes com tuberculose extrapulmonar, comparado a pacientes que apresentavam tuberculose pulmonar somente. Chen e colaboradores (2007) mostraram também que o percentual de células Treg CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ se correlacionava de forma inversa com a imunidade TB específica e que as células Treg presentes no sangue e pleura de pacientes com a doença eram capazes de suprimir a produção de IFN- γ e IL10. Estes estudos sugerem que a expansão da população de células Treg pode predispor ou até ser um marcador de progressão da TL para doença ativa. Corroborar esta hipótese a observação de que a depleção “ex vivo” de Linfócitos CD4⁺ CD25⁺ do sangue periférico resultou no aumento de proliferação de Linfócitos T IFN- γ ⁺ Mtb antígeno específico em sete de oito pacientes com tuberculose ativa (HOUGARDT *et al.*, 2007; CHEN *et al.*, 2007).

1.7 Testes Diagnósticos para detecção da infecção por *M. tuberculosis*

1.7.1 Prova Tuberculínica (PT)

Motivado pela descoberta da vacina contra o carbúnculo por Louis Pasteur, Robert Koch direcionou seus esforços na busca de uma vacina contra a tuberculose. Em 1890, anunciou a descoberta da “primeira tuberculina”, um extrato glicerinado estéril obtido de culturas do bacilo da tuberculose. Em seus experimentos, Koch mostrou que quando o extrato era aplicado em cobaias infectadas com o bacilo, a sobrevivência dos animais era maior e que alguns até evoluíam para cura. Em contrapartida, o mesmo extrato era inócuo para os animais saudáveis (SILVEIRA, 1941). A princípio, Koch acreditou ter descoberto a cura para a tuberculose, o que o motivou a apresentar em 1890 seus resultados no 20^o Congresso Médico Internacional em Berlim em uma palestra intitulada “On Bacteriological Investigation”. Durante a apresentação ele anunciou que havia descoberto uma substância que impedia o crescimento do bacilo, curava a tuberculose em cobaias e que poderia ser útil no tratamento da doença especialmente nos seus estágios iniciais. Nos meios acadêmicos o seu pronunciamento caiu como uma “bomba” principalmente pelo prestígio do seu nome. As revistas científicas da época (Lancet e British Medical Journal) publicaram um editorial sobre o assunto exaltando os experimentos de Koch, ressaltando que a cura da doença havia sido descoberta. Na realidade o que Koch descreveu, ficou conhecido posteriormente como o “Fenômeno de Koch”, definido como a resistência de um animal à reinfecção (BURKE, 1993). O médico alemão Pohl Pincus, que lera o trabalho de Koch, cunhou o nome “Tuberculina” em analogia a métodos de imunização utilizados à época que usavam extratos bacterianos, cuja nomenclatura incorporava o nome do patógeno, p.ex variolina e escarlatinina (ROSEMBERG, 1999).

A notícia da descoberta do possível tratamento da Tuberculose desencadeou um enorme fluxo de pacientes a Berlim em busca da cura. O tratamento dos pacientes resultou em um grande fracasso, além de alguns resultados desconcertantes que posteriormente acabaram por definir a aplicabilidade da tuberculina no diagnóstico da TL. Coube a Clemens von Pirquet, médico pediatra austríaco, a descoberta da verdadeira utilidade da tuberculina: o diagnóstico da infecção pelo *M. tuberculosis*. Pirquet já havia observado que um paciente que recebera soro escarlatinoso, apresentara reação ao soro no mesmo dia da aplicação, quando o esperado era que a reação ocorresse nas aplicações subsequentes, geralmente 10 dias após a aplicação inicial. Resultados idênticos

foram observados com o soro anti-variólico. Pirquet intuiu então sua teoria sobre tempo de incubação de doenças utilizando como lógica a presença de um certo grau de imunidade prévia nos indivíduos que recebiam o soro pela segunda vez, o que explicaria a rapidez da resposta da reação cutânea. Estes dados fortaleceram a evidência científica, em voga na época, sobre o encurtamento do “tempo de incubação”. Pirquet decidiu então testar a tuberculina aplicando os mesmos preceitos das suas observações anteriores. Em 1905, ele introduziu a cuti-reação ou reação de escarificação, atribuindo sua positividade a certeza de uma infecção tuberculosa prévia. Três anos mais tarde, Charles Mantoux introduziu e desenvolveu o método intradérmico (teste de Mantoux), que permanece em uso até os dias atuais (SILVEIRA, 1941). O que mudou entretanto ao longo do tempo foi a tuberculina de Koch citada na literatura científica como “Old Tuberculin”.

Em 1932, Florence Seibert isolou uma proteína de baixo peso molecular, através da precipitação, com sulfato de amônio ou ácido tricloroacético, de um filtrado de culturas de *M. tuberculosis*. Pequenas modificações nesta técnica para obtenção de um antígeno mais específico resultaram no que conhecemos hoje como PPD (*Purified Protein Derivative*). Em 1939, a preparação de uma grande quantidade de PPD (Lote 49608) tornou essa tuberculina padrão de referência para o uso em Saúde Pública nos EUA. Em 1944, esse lote foi renomeado PPD-S (“Standard”), e em 1952, foi adotado como padrão internacional para a prova tuberculínica pela OMS (AFFRONTI *et al.*, 1969; LEE & HOLZMAN, 2002).

A solução de tuberculina ou PPD contém dezenas de antígenos do *M. tuberculosis*, cuja composição exata, pode variar entre preparações de diferentes lotes. Ela deve ser conservada entre 2°C e 8°C, e não deve ser exposta a luz solar direta, sob pena de perder sua potência (STARKE & COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES, 2014).

O PPD-RT23 (RT: Reset Tuberculin, 23: número do lote), outra tuberculina muito utilizada mundialmente e de escolha no Brasil, foi adotada pela OMS em 1958, e produzida até recentemente pelo Statens Serum Institut de Copenhague na Dinamarca. Sua utilização se faz por via intradérmica no terço médio da face anterior do antebraço esquerdo, na dose de 0,1ml (equivalente a 2 UT) e sua

equivalência biológica corresponde a 5 UT do PPD-S (GULD *et al.*, 1958; BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

A PT é utilizada tanto em adultos quanto em crianças para o diagnóstico de infecção latente pelo Mtb. É também uma ferramenta importante no diagnóstico da TB pulmonar em crianças e adolescentes negativos à baciloscopia, fazendo parte do sistema de pontuação adotado pelo Ministério da Saúde. Do ponto de vista epidemiológico os resultados da PT permitem estimar a prevalência da infecção na população em geral (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

A técnica de aplicação, leitura e o material utilizado são padronizados pela OMS, padronização esta que, se não seguida corretamente, pode influenciar na reprodutibilidade dos seus resultados. O teste depende de injeção intradérmica precisa, que deve ser realizada por profissional treinado. Sua leitura necessita ser feita em 48 a 72 horas após aplicação, com prazo máximo de 96 horas. A interpretação correta da reação envolve a palpação cuidadosa da induração, que deve ser medida com régua milimetrada apropriada, levando-se em consideração o seu maior diâmetro transversal (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

De acordo com o manual de “Técnicas de Aplicação e Leitura da Prova Tuberculínica” reações com induração igual ou superior a 5 mm já são consideradas positivas. Além disso, o manual também estabelece não haver necessidade de repetição do teste nos indivíduos com resultado igual ou superior a 10 mm (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

A responsividade ao PPD é desencadeada por uma resposta mediada por células, do tipo tardia, aos antígenos presentes na tuberculina. A induração no local da aplicação é consequência ao processo inflamatório secundário à migração de células mononucleares previamente sensibilizadas aos antígenos do *M. tuberculosis* presentes no PPD (STARKE & COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES, 2014).

A PT é um exame auxiliar na investigação clínica e não distingue o estado de infecção de doença, e sua interpretação deve utilizar obrigatoriamente a história clínica/epidemiológica do paciente, o exame radiológico e o tamanho da induração. Os indivíduos com exposição a micobactérias ambientais apresentam geralmente indurações <10 mm, mas reações maiores não são incomuns (BRASIL,

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011; STARKE & COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES, 2014)

Resultados falsos-positivos podem ocorrer por erros na aplicação e/ou leitura do TT, reações cruzadas com micobactérias não tuberculosas (MNT); vacinação recente com BCG, diminuição da drenagem linfática da derme por estase venosa ou diminuição local do fluxo arteriolar (SUCCI, 1987).

A influencia da vacina BCG e das micobactérias não tuberculosas (MNT) nos resultados falso-positivos é um tema ainda controverso. Farhat e colaboradores em artigo de revisão sobre o assunto concluíram que o efeito do BCG sobre resultado da PT é mínimo, especialmente se o indivíduo foi vacinado por período ≥ 10 anos e que a vacinação após a infância produz indurações maiores e mais persistentes. Em relação as MNT os autores concluíram que as reações falso-positivas não tem importância clínica, exceto em populações com alta prevalência de MNT e baixa prevalência de infecção por Mtb, o que não seria o caso do Brasil (FARHAT *et al.*, 2006).

Por outro lado, resultados falso-negativos podem ocorrer por imprecisão técnica ou armazenamento inadequado do PPD, ou mais frequentemente em indivíduos com comprometimento do sistema imunológico seja primário ou adquirido como p.ex AIDS, neoplasias, desnutrição, uso de imunossupressores (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

1.7.2 Ensaios de liberação de interferon-gama (IFN- γ)

Até o início da década de 2000 o único teste disponível para o diagnóstico da TL era a prova tuberculínica, o que de certa forma explica a ausência de estudos sobre sua sensibilidade e especificidade, além do fato da inexistência de um padrão ouro microbiológico que confirme a presença do bacilo nesta situação. Mais recentemente surgiram os testes baseados na produção de IFN- γ por linfócitos T de memória, após desafio a antígenos do *M. tuberculosis*. Estes testes conhecidos pela sigla IGRA (Interferon Gama Release Assay), trouxeram no seu bojo a esperança de uma performance superior em relação ao mais que centenário PPD.

Em 2001, o QuantiFERON[®]-TB (Cellestis Ltd) foi primeiro IGRA a ser licenciado pelo FDA americano para uso comercial, como método auxiliar no diagnóstico da TL. Inicialmente o teste usava a técnica de ELISA para quantificar a produção de IFN- γ , em resposta ao coquetel de proteínas do PPD. Devido a problemas de especificidade, o teste sofreu modificações em duas versões subsequentes até chegar à versão usada atualmente: o QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube* - QFT-GIT (Cellestis Ltd, Carnegie, Australia). Estas modificações incluíram a substituição das proteínas do PPD por três antígenos sintéticos específicos do *M. tuberculosis*: o ESAT-6 (early secretory antigenic target-6), o CPF-10 (culture filtrate protein 10) e o TB7.7, um antígeno da cepa Rv2654c do *M. tuberculosis* (PAI *et al.*, 2014). Estas proteínas não são expressas pela cepa de *M. bovis*, utilizada na confecção da vacina BCG, e pela maioria das espécies de micobactérias não tuberculosas, à exceção do *M. kansasii*, *M. szulgai*, e *M. marinum* (ANDERSEN *et al.*, 2000). Pacientes infectados por estas micobactérias podem, em determinadas situações epidemiológicas, apresentar resultados falso positivos ao QuantiFERON[®]-TB Gold (AREND *et al.*, 2002). Existem também algumas evidências na literatura de possíveis reações cruzadas com o *M. leprae* (GELUK *et al.*, 2002; GELUK *et al.*, 2004).

A segunda modificação importante incorporada ao teste foi a substituição do ELISA por um sistema no qual, o sangue retirado do paciente é coletado diretamente em tubos contendo os antígenos específicos do Mtb, onde o desafio celular acontece. Além dos tubos contendo os antígenos, um tubo controle com mitógenos foi também adicionado (PAI *et al.*, 2014).

Em 2008 o FDA aprovou o segundo IGRA (T-SPOT[®] TB - Oxford Immunotec Ltd., Abingdon, Reino Unido), uma versão simplificada do ELISPOT (Enzyme Linked Immunospot), que também detecta IFN- γ produzido por linfócitos T em resposta à estimulação com as proteínas ESAT-6 e CFP-10 do *M. tuberculosis*. Ao invés de sangue total o T-SPOT[®] utiliza células mononucleares do sangue periférico (PBMC) em sua reação.

Pelos mesmos motivos alegados acima para o PPD, a performance dos dois testes é de difícil quantificação. A maioria dos ensaios clínicos incluiu em sua análise de sensibilidade, pacientes com tuberculose confirmada por cultura e, na

análise da especificidade pacientes com alto ou baixo risco de apresentarem TL. Baseado nesses estudos, ambos os testes tem sensibilidade ao redor de 95% em países com baixa incidência de tuberculose e especificidade semelhante à do PPD que foi de 97%. Em pacientes vacinados com BCG, a especificidade pode cair ao redor de 60% e depende de quando e em que frequência a vacina é utilizada. Em condições epidemiológicas semelhantes as descritas acima, a sensibilidade do T-SPOT® TB parece ser superior à do QuantiFERON®-TB Gold e PPD, cujos percentuais foram respectivamente 90%, 80%, e 80% (METCALFE *et al.*, 2011; SESTER *et al.*, 2011; PAI, ZWERLING, MENZIES, 2008).

Como mencionado anteriormente, dentre os indivíduos que se infectam com o *M. tuberculosis*, as crianças são aquelas com maior risco de progressão para doença. Faremos a seguir uma breve revisão da literatura, pertinente ao uso de IGRA's e PPD no diagnóstico da TL na faixa etária pediátrica. Esta revisão se justifica pela grande diversidade metodológica entre os estudos publicados que certamente afetaram os resultados encontrados.

Uma busca na base de dados PubMed até o mês de Abril do ano de 2015 usando os descritores "IGRA, Tuberculosis, Children" resultou no achado de 109 artigos. Destes, somente **12** tinham por objetivo o diagnóstico da TL em contatos, domiciliares ou não, de pacientes bacilíferos. Todos os trabalhos avaliaram a performance entre o QuantiFERON®-TB Gold e a prova tuberculínica em populações com faixa etária que incluía aquela do nosso estudo. **Cinco** estudos definiram como positiva uma reação à prova tuberculínica $\geq 5\text{mm}$, diferente do utilizado no nosso estudo, cujo ponto de corte foi $\geq 10\text{mm}$ (CHUN *et al.*, 2008; CONNELL *et al.*, 2008; ALTET-GÓMEZ *et al.*, 2011; KASAMBIRA *et al.*, 2011; THOMAS *et al.*, 2011). Entretanto, ao contrário dos demais estudos, dois deles incluíram também na análise dos seus resultados a concordância entre os dois testes com dois pontos de corte: $\geq 5\text{mm}$ e $\geq 10\text{mm}$. Na análise geral, os cinco estudos demonstraram uma concordância baixa entre os testes. Em relação aos dois estudos que analisaram a concordância com os dois pontos de corte mencionados acima, o realizado na Coréia do Sul por Chun e colaboradores (2008) mostrou concordância melhor no ponto de corte $\geq 10\text{mm}$ ($k=0,529$ vs $k=0,19$) e o outro estudo realizado na África do Sul por Kasambira e colaboradores (2011) mostrou não haver diferença entre eles ($k=0,54$ vs $k=0,58$).

Outros três estudos, um realizado no Brasil, um no Camboja e outro na Indonésia utilizaram as faixas etárias de 0-6 anos, ≤ 5 anos e de 6 meses a 9 anos respectivamente. A cicatriz vacinal estava presente em mais que 70% dos participantes dos três estudos. A concordância foi considerada baixa no estudo realizado no Brasil, e moderada naqueles realizados no Camboja e na Indonésia (PEREZ-PORCUNA *et al.*, 2014; OKADA *et al.*, 2008; RUTHERFORD *et al.*, 2012).

Outros Dois estudos, apesar de descreverem uma metodologia semelhante à utilizada no nosso estudo (faixa-etária, cobertura vacinal do BCG, ponto de corte (≥ 10 mm) e tempo de leitura da PT), apresentaram concordância moderada/baixa. Ambos estudos, utilizaram além do QuantiFERON[®]-TB Gold, também o T-SPOT[®] TB. Os testes foram realizados na visita de baseline logo após a identificação do caso índice. O primeiro estudo, realizado em Gambia, por Adetifa e colaboradores (2010), utilizou o PPD-RT23 na dosagem de 2 UT, e demonstrou uma concordância entre a PT e o QFT-GIT moderada ($k= 0,52$ IC95% 0,40-0,66). O outro estudo, realizado por Tieu e colaboradores (2014) na Tailândia, utilizou uma dosagem de PPD (10 UT), diferente daquela utilizada no nosso estudo, e não especificou o fabricante do mesmo. A concordância relatada entre o QFT-GIT e a PT foi considerada baixa ($k=0,29$ IC 95%: 0,18-0,72).

O décimo primeiro estudo realizado na Nigéria, por Nakaoka e colaboradores (2006), realizou a prova tuberculínica e o QuantiFERON[®]-TB Gold nos contatos, três meses ou mais após o diagnóstico do caso índice. A dose utilizada do PPD foi 10 UT (Chiron Vaccines Evans, Liverpool, UK), e considerou-se positiva uma reação ≥ 10 mm. Foram avaliadas somente 66 crianças que pertenciam ao grupo de contatos de pacientes bacilíferos. A concordância entre os testes nesse grupo foi considerada moderada ($k=0,498$).

O último estudo, realizado na Venezuela por Verhagen e colaboradores (2014), avaliou crianças indígenas com até 15 anos de idade, que eram contatos domiciliares de pacientes com TB pulmonar (baciloscopia e cultura positivas). O QuantiFERON[®]-TB Gold e a prova tuberculínica foram realizados nos contatos em período variável de até 6 meses após a identificação do caso índice. Os autores mostraram uma concordância substancial ($k=0,76$ IC95% 0,46-1,06) entre os dois testes. Onze casos concomitantes de doença pulmonar foram detectados na

primeira triagem e 41% dos voluntários do apresentavam exame radiológico do tórax alterado (calcificações e/ou fibrose e/ou bronquiectasias).

A motivação para realização do nosso estudo deveu-se em primeiro lugar, à discrepância/inconsistência dos resultados publicados na literatura sobre a utilização dos dois únicos testes disponíveis atualmente para o diagnóstico da tuberculose latente. Em segundo lugar porque acreditávamos na importância da contribuição sobre o tema que o nosso estudo traria em relação a determinação do “tempo ideal” de utilização dos dois testes, uma vez que dispúnhamos de casuística expressiva e uma padronização metodológica e adequada aos objetivos pretendidos.

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a concordância entre a prova tuberculínica e o teste QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube*, no diagnóstico da infecção latente, pelo *Mycobacterium tuberculosis*, em crianças e adolescentes com idades entre 6 meses e 15 anos, contatos de pacientes bacilíferos residentes na Região Metropolitana de Vitória-ES.

2.2 Específicos

1. Avaliar a concordância entre a prova tuberculínica e QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube* em duas faixas etárias (≤ 5 anos e 6-15 anos);
2. Avaliar se existe correlação entre diferentes pontos de corte da leitura da prova tuberculínica (0-4mm; 5-9mm; 10-14mm e ≥ 15 mm) com o resultado do teste QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube*;
3. Avaliar os fatores associados com a positividade da prova tuberculínica e do teste QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube*.

Material e Métodos

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e Período do Estudo

O estudo foi realizado na Região Metropolitana de Vitória, abrangendo os municípios de Vitória, Serra, Cariacica e Vila Velha, no período entre Março de 2008 e Outubro de 2013.

3.2 Descrição do Estudo

Trata-se de um estudo de comparação entre dois testes utilizados no diagnóstico da tuberculose latente causada por *M. tuberculosis*: a prova tuberculínica e o teste QuantiFERON®-TB Gold *in tube*.

Este estudo, conduzido no Núcleo de Doenças Infecciosas (NDI) do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo utilizou dados de um estudo maior intitulado “Colaboração EUA-Brasil em pesquisa sobre variação de cepas em tuberculose” cujo objetivo era avaliar a transmissão do *Mycobacterium tuberculosis* em contatos domiciliares de casos índices de TB pulmonar confirmada por diagnóstico microbiológico - baciloscopia de escarro ($\geq 2+$) e cultura. A transmissão intradomiciliar foi avaliada através da prova tuberculínica e do teste QuantiFERON®-TB Gold *in tube*. A comparação entre os resultados dos dois testes na faixa etária compreendida entre 6 meses e 15 anos compõem o objeto desta dissertação de mestrado.

A transmissão intradomiciliar dos contatos foi avaliada em 2 etapas. **A primeira** consistiu na aplicação do PPD (leitura entre 72 a 96 horas), sempre realizado nas primeiras duas semanas após a identificação do caso índice. A seguir o domicílio era visitado por um médico que coletava dados clínicos, epidemiológicos e demográficos. O exame radiológico do tórax foi solicitado a todos os contatos independentemente do resultado da PT.

Na segunda etapa, ocorrida entre 8 a 10 semanas após a identificação do caso índice, coletou-se uma amostra de sangue de cada participante para realização do teste QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube*. Imediatamente após a coleta de sangue, uma segunda PT foi realizada nos indivíduos cuja leitura inicial fora < 10mm.

Os resultados da PT eram repassados aos Programas de TB dos municípios participantes que avaliavam a indicação ou não de quimioprofilaxia para LTBI. Como forma de assegurar o diagnóstico correto de TL na população do estudo, realizamos seguimento de 12 meses após a inclusão dos voluntários, com o objetivo de detectar possíveis casos secundários da doença entre eles.

3.3 Aspectos Éticos

O estudo foi financiado pelo National Institutes of Health (RFP-NIAID-DMID-NIH-A12008026) e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da New Jersey Medical School (13 de junho de 2007), Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, em 27 de junho de 2007 (CEP: 050/07) e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa em novembro de 2007 (CONEP-14151). Todos os responsáveis legais dos participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Além disso, as crianças e adolescentes com idades entre 7 a 15 anos assinaram também o Termo de Assentimento. Nenhum procedimento do estudo foi realizado antes da assinatura do Termo de Consentimento/Assentimento.

3.4 População do Estudo

Crianças e adolescentes com idades entre 6 meses e 15 anos, que residiam no mesmo domicílio do caso índice ou possuíam contato próximo do mesmo por pelo menos 3 meses. Definiu-se como caso índice, pacientes adultos (≥ 18 anos), HIV negativos, caso novo de tuberculose pulmonar bacilífera ($\geq 2+$), recém-diagnosticada, confirmada bacteriologicamente por cultura e com tosse há pelo menos 3 semanas.

3.4.1 Seleção dos participantes do estudo:

Foram selecionadas crianças e adolescentes que residiam no mesmo domicílio do caso índice ou que preenchiam **pelo menos um** dos seguintes critérios de “contato próximo” com o caso índice por **pelo menos três meses**:

- a) Dormir sob o mesmo teto do caso índice por pelo menos cinco dias na semana;
- b) Compartilhar ao menos uma refeição diária com o caso índice por pelo menos cinco dias na semana;
- c) Assistir televisão ou compartilhar o mesmo ambiente com o caso índice por pelo menos cinco dias na semana ou nos finais de semana.

3.4.2 Critérios de Inclusão:

- a) Ter participado do Estudo intitulado “Colaboração EUA-Brasil em pesquisa sobre variação de cepas em tuberculose”.
- b) Assinatura do Termo de Assentimento (crianças e adolescentes com idade entre 7 a 15 anos) e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) dos pais ou representantes legais.
- c) Possuir idade entre 6 meses e 15 anos no dia da inclusão;
- d) Ter sido contato de paciente com TB pulmonar bacilífera, por pelo menos três meses antes do arrolamento no estudo;

3.4.3 Critérios de Exclusão:

- a) Prova tuberculínica prévia com resultado positivo (≥ 10 mm);
- b) História de exposição prévia a paciente diagnosticado com tuberculose pulmonar;
- c) História prévia de tuberculose ou diagnóstico de TB em atividade (TB concomitante ao caso índice);

- d) Doença febril (temperatura $\geq 38,0$ °C) ou doença/infecção aguda moderada ou grave no momento da realização dos procedimentos do estudo;
- e) Não realização ou recusa a qualquer procedimento do estudo.

3.5 Coleta dos Dados

3.5.1 Avaliação clínica e epidemiológica:

Os dados clínicos, epidemiológicos e demográficos coletados por uma equipe do estudo (médicos e enfermeiros) incluíram: sexo, idade, peso, altura, índice de massa corporal (IMC), presença de cicatriz de vacinação BCG, tipo de contato (dormir no mesmo domicílio que o caso índice, dormir no mesmo quarto, ou, dormir em domicílio diferente que o caso índice) e tempo de convivência com caso índice (horas/dia), presença ou ausência de sintomas de TB (tosse ≥ 3 semanas, febre vespertina, perda de peso e/ou sudorese noturna), presença ou ausência de anormalidades na tele-radiografia do tórax (sugestiva de exposição prévia ao *M. tuberculosis*) e história patológica pregressa (HIV, hipertensão, diabetes, doença pulmonar obstrutiva crônica - DPOC, artrite, câncer, hepatite, doença renal e uso prolongado de esteróides).

3.5.2 Avaliação da Cicatriz do BCG:

A informação sobre aplicação da vacina BCG ao nascimento foi obtida através do cartão de vacinação de todos os participantes do estudo. Além disso, todas as crianças e adolescentes foram examinados para verificação da existência ou não de cicatriz da vacina BCG na área deltóide direita.

3.5.3 Avaliação do Estado Nutricional:

Em crianças e adolescentes o crescimento e o desenvolvimento são avaliados por meio de indicadores antropométricos como peso/idade, altura/idade, peso/altura e IMC/idade. O indicador de escolha para avaliação nutricional dos participantes do estudo foi o IMC segundo a idade e o sexo, mensurado através do score z, recomendado pela OMS tanto para estudos epidemiológicos, quanto para pesquisas clínicas (ARAÚJO & CAMPOS, 2008).

O escore z significa o número de desvios padrão (DP) abaixo ou acima da mediana da população de referência em que se encontra a medida ou o indicador antropométrico do indivíduo analisado. Segundo a OMS, utilizando a tabela score z, as classificações de acordo com os desvios padrão, são os seguintes: magreza severa, magreza, eutrofia, risco de sobrepeso (de 0 a 5 anos), sobrepeso e obesidade (WHO, 2006).

Para análise no estudo, essas 5 categorias descritas acima foram reclassificadas em 3 grupos: **baixo peso**, que incluiu os participantes classificados como magreza (escore-z > - 3 DP e escore-z ≤ - 2 DP) ou magreza severa (escore-z < -3 DP); **normalidade para IMC** (escore-z ≥ - 2 DP e escore-z < +1 DP), com indivíduos classificados como eutróficos; e **excesso de peso** (acima do escore-z +1 DP), que por sua vez, incluiu os indivíduos classificados como sobrepeso ou obesidade.

3.6 Procedimentos do Estudo

3.6.1 Prova Tuberculínica (PT):

Para realização da prova tuberculínica utilizou-se a tuberculina PPD RT23 (Statens Serum Institut, Copenhagen, Dinamarca). Aplicou-se 0,1 mL (2UT) por via intradérmica no terço médio da face anterior do antebraço esquerdo. A leitura do teste foi realizada 72 horas após injeção e em alguns casos excepcionais, 96 horas após. A induração quando presente foi medida com régua milimetrada, levando-se em consideração o maior diâmetro transversal da área de induração palpável, conforme estabelece o Manual de Normas para o Controle da Tuberculose do

Ministério da Saúde (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). O resultado da prova tuberculínica foi registrado em milímetros. Considerou-se como positiva, uma induração igual ou superior a 10mm. Os resultados abaixo de 10 mm foram considerados negativos.

3.6.2 Detecção e Quantificação de Interferon-Gama (IFN- γ) pelo QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube*:

A detecção e quantificação de Interferon-Gama (IFN- γ) pelo QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube* em amostras de sangue de pacientes foram feitas utilizando-se o reagente comercial **QuantiFERON[®]-TB Gold** obedecendo as recomendações do fabricante (QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube*, Cellestis, Carnegie, Austrália). O princípio é baseado na detecção de Interferon-Gama (IFN- γ), por teste imunoenzimático, produzido por células T após estímulos por antígenos específicos de *M. tuberculosis* (REF).

3.6.2.1 Coleta e incubação de sangue para o teste

O sangue utilizado na realização do teste QuantiFERON[®]-TB Gold (3mL) foi obtido dos voluntários do estudo através de punção venosa periférica. A coleta de sangue era feita no domicílio do voluntário ou Unidade de Saúde próxima, por enfermeiro da equipe, utilizando-se scalp 23 (BD Vacutainer[®] - Becton, Dickinson).

O teste foi processado em duas etapas: A primeira etapa ocorreu no campo quando, no momento da punção, 3 alíquotas de 1mL de sangue total de cada indivíduo foram coletadas diretamente em três tubos separados: o tubo de controle negativo contendo apenas heparina, o tubo de controle positivo contendo fitohemaglutinina como mitógeno e um terceiro tubo contendo peptídeos específicos para *M. tuberculosis* - ESAT-6, CFP-10 e TB7.7 (Rv2654). Após a coleta, os tubos eram agitados manualmente por cinco a dez segundos para garantir a distribuição homogênea do sangue em toda sua superfície. Em seguida os tubos eram acondicionados em caixas térmicas para o transporte ao laboratório de imunologia

do NDI onde eram incubados a 37°C. Nenhum dos tubos permaneceu em temperatura ambiente por prazo superior a três horas após a coleta.

A segunda etapa ocorreu no Laboratório de Imunologia Celular e Molecular do Núcleo de Doenças Infecciosas da Universidade Federal do Espírito Santo - UFES.

Os técnicos responsáveis pelos procedimentos laboratoriais eram cegos em relação às informações clínicas e os resultados da PT. Assim que chegavam ao Laboratório os tubos eram incubados em estufa, a 37°C, em posição vertical, por 16 a 20 horas. Após este período, o material era centrifugado durante 15 minutos a 3.000 RPM (rotações por minuto), para a obtenção de plasma que era aliqotado em microtubos de polipropileno de 1,5 mL do tipo Eppendorf. Os tubos eram mantidos em freezer a -20°C até a realização do teste ELISA. O tempo de congelamento dessas amostras não excedeu quatro semanas.

Na figura 2 vê-se as etapas do teste de detecção e quantificação do IFN- γ .

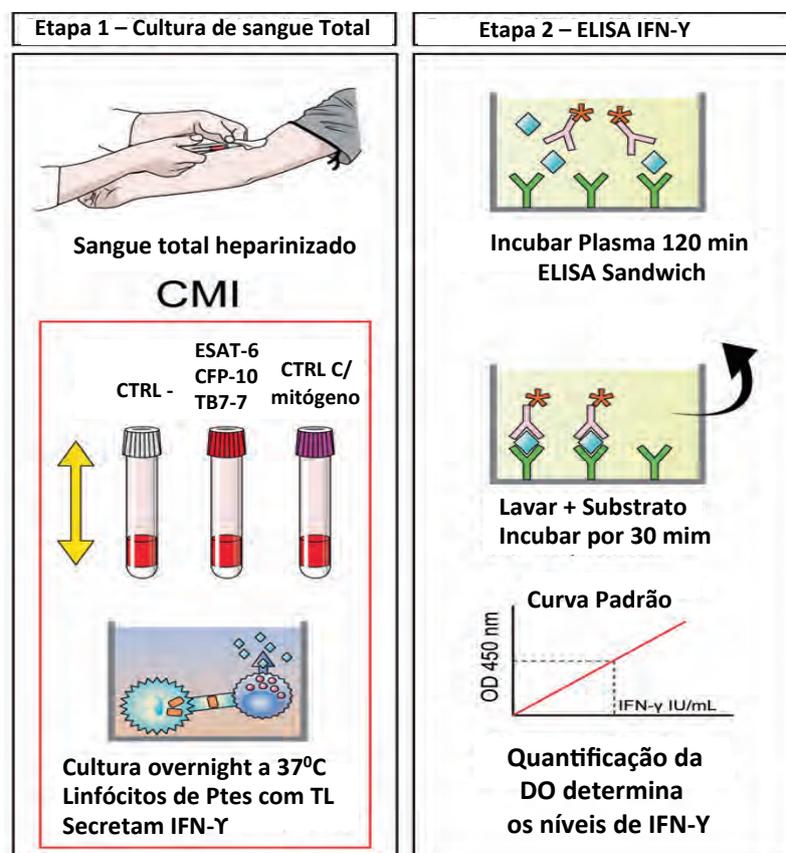


Figura 2. Procedimentos e etapas laboratoriais para execução do teste QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube*.

Fonte: Adaptado, MOON & HUR, 2013.

3.6.2.2 Teste Imunoenzimático (ELISA):

Primeiramente, a solução padrão de IFN- γ era reconstituída com água destilada produzindo-se uma solução de concentração de 8,0 UI/mL de IFN- γ . Com esta solução obtinha-se quatro diluições para a realização da curva padrão de concentração de IFN- γ .

As amostras de plasma eram descongeladas e processadas em temperatura ambiente. Todos os reagentes utilizados também eram mantidos em temperatura ambiente durante todo o processo. As amostras a serem processadas eram previamente agitadas para garantir que o IFN- γ estivesse uniformemente distribuído em cada alíquota. Em cada orifício da placa de poliestireno, previamente sensibilizados com anticorpo monoclonal anti- IFN- γ humano, adicionava-se 50 μ L das amostras de plasma dos três frascos diferentes de cada indivíduo, 50 μ L do conjugado (anticorpo monoclonal anti- IFN- γ humano-peroxidase). Após incubação por 120 minutos em temperatura ambiente e ao abrigo da luz, as placas eram lavadas 6 vezes com solução de lavagem. Em seguida adicionava-se 100 μ L da solução cromogênica (tetrametilbenzidina - TMB/H₂O₂) à placa que era incubada por 30 minutos nas mesmas condições acima descritas. Após o período de incubação, a reação era interrompida pela adição de 50 μ L de solução bloqueadora (H₂SO₄ 0,5M). As placas eram lidas em leitor de ELISA a 450nm para a obtenção das densidades ópticas (DO). No ensaio realizado foram incluídos, em duplicata, quatro padrões de IFN- γ humano fornecido pelo fabricante.

Para que o ELISA fosse considerado válido, o teste deveria apresentar um coeficiente de variação menor que 15% e um coeficiente de correlação para a curva padrão maior que 0,98. Esses valores eram calculados pelo "software" fornecido pelo fabricante. Após essas verificações as densidades ópticas obtidas para cada antígeno e controles eram convertidas em Unidades Internacionais por mililitro (UI/ml) tomando-se como base a curva padrão gerada no ensaio. O resultado do teste foi considerado positivo quando os níveis de IFN- γ produzido após estímulo com os antígenos ESAT-6 e/ou CFP-10 eram maiores ou iguais a 0,35 UI/ml, já descontado o valor do controle negativo, como demonstra o Quadro II abaixo.

Quadro II – Interpretação dos resultados possíveis de serem obtidos com a utilização do teste QuantiFERON®-TB Gold *in tube*.

Controle Negativo [UI/mL]	Antígeno menos o negativo [UI/mL]	Mitógeno menos o negativo [UI/mL]	Resultado	Interpretação
≤ 8,0	< 0,35	≥ 0,5	Negativo	Infecção pouco provável
≤ 8,0	≥ 0,35 e < 25% o valor do negativo	≥ 0,5	Negativo	Infecção pouco provável
≤ 8,0	≥ 0,35 e ≥ 25% o valor do negativo	qualquer	Positivo	Infecção provável
≤ 8,0	< 0,35	< 0,5	Indeterminado	Resultado Indeterminado
≤ 8,0	≥ 0,35 e < 25% o valor do negativo	< 0,5	Indeterminado	Resultado Indeterminado
> 8,0	qualquer	qualquer	Indeterminado	Resultado Indeterminado

Fonte: Cellestis, Carnegie, Austrália.

3.7 Codificação e Armazenamento dos Dados

As informações foram codificadas para preservar a confidencialidade dos voluntários e armazenadas em um banco de dados criado no Software Excel for Windows 2007®. Os dados coletados eram registrados em Formulários de Relato de Caso (CRF – *Case Report Form*) por pesquisadores treinados, para garantir a acurácia dos dados documentados. Qualquer alteração era realizada de acordo com as normas de Boas Práticas Clínicas. As cópias originais dos CRFs eram escaneadas utilizando-se o software *Teleform reader (Incluir fabricante e versão)*. Em seguida, os dados eram exportados para o *Teleform verifier* versão 9.1 onde um profissional habilitado verificava se as informações lidas pelo *Teleform reader* eram consistentes com o registrado em cada formulário. O banco de dados gerado neste programa era, posteriormente, exportado para uma planilha no Excel versão 2013.

3.8 Análise dos Dados

Realizou-se análise descritiva de todas as variáveis contidas no estudo, que incluíam: distribuição de frequências para variáveis qualitativas e cálculo da média e desvio-padrão para variáveis quantitativas.

Na comparação dos grupos (participantes x recusos) utilizamos o testes t para as variáveis quantitativas e qui-quadrado para as variáveis qualitativas.

Os resultados da prova tuberculínica e do QuantiFERON[®]-TB Gold foram interpretados de forma independente. A concordância entre os resultados de ambos os testes foi mensurado pelo índice Kappa (κ) com a seguinte interpretação: $\kappa \leq 0,20$ - leve concordância; $\kappa > 0,20$ a $\leq 0,40$ - baixa concordância; $\kappa > 0,40$ a $\leq 0,60$ - moderada concordância; $\kappa > 0,60$ a $\leq 0,80$ - alta concordância e $\kappa > 0,80$ a $\leq 0,99$ - concordância quase perfeita (VIERA, GARRETT, 2005). Para análise da concordância entre o resultado do QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube* estratificado pelo diâmetro de induração da PT foi utilizado o qui-quadrado para tendência (dose response).

Na análise bivariada, as possíveis associações entre as variáveis demográficas, clínicas e epidemiológicas e a positividade da prova tuberculínica e do teste QuantiFERON[®]-TB Gold foram verificadas através do teste t para variáveis quantitativas e do qui-quadrado para as variáveis qualitativas. Para as variáveis “Tipo de Exposição ao Caso Índice” e “Duração do contato (horas/dia) entre o caso índice e seu(s) comunicantes, durante os 3 meses que precederam o diagnóstico de TB”, realizou-se a partição do qui-quadrado para determinar qual categoria teria contribuído para a significância do teste estatístico. As associações com valor de $p \leq 0,30$ foram incluídas no modelo multivariado (regressão logística, variável resposta binária), sendo calculadas as razões de chances (*odds ratio* – OR), e os intervalos de confiança a 95% (IC95%).

O método utilizado foi a inclusão de todas as variáveis selecionadas no modelo inicial (modelo completo) e a retirada (uma a uma, *stepwise*) das variáveis que não mostrassem significância estatística, até o modelo final. As variáveis que permaneceram tinham significância estatística. O log-likelihood dos modelos inicial e final foram comparados (admitiu-se uma variação de até 10%) com o intuito de mostrar que a retirada das variáveis não alterou o modelo.

Para análise dos dados foram utilizados os programas estatísticos: Epi-Info™ 7, versão 7.1.5 (Center for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, EUA); Stata®, versão 12.0 (StataCorp LP, College Station, TX, EUA); e OpenEpi, versão 3.03 (Dean AG, Sullivan KM, Soe MM. OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, <http://www.OpenEpi.com>).

Resultados

4 RESULTADOS

Entre Março/2008 e Outubro/2013, foram triados 578 crianças e adolescentes com idades entre 6 meses e 15 anos, contatos de pacientes com tuberculose pulmonar bacilífera ($\geq 2+$). Destes, 172 não preenchiam os critérios de inclusão do estudo. Dos 406 participantes arrolados, 114 (28,1% - exclusão precoce) não puderam ser incluídos pelos seguintes motivos: **a)** não realização da primeira prova tuberculínica (6), **b)** não realização da segunda prova tuberculínica (22), **c)** recusa da coleta de sangue, difícil acesso venoso e volume de sangue insuficiente para realização do teste QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube* (86). Um participante foi excluído devido ao resultado indeterminado do QuantiFERON[®]-TB Gold. Portanto, para fins de análise no estudo foram considerados 291 participantes (Figura 3).

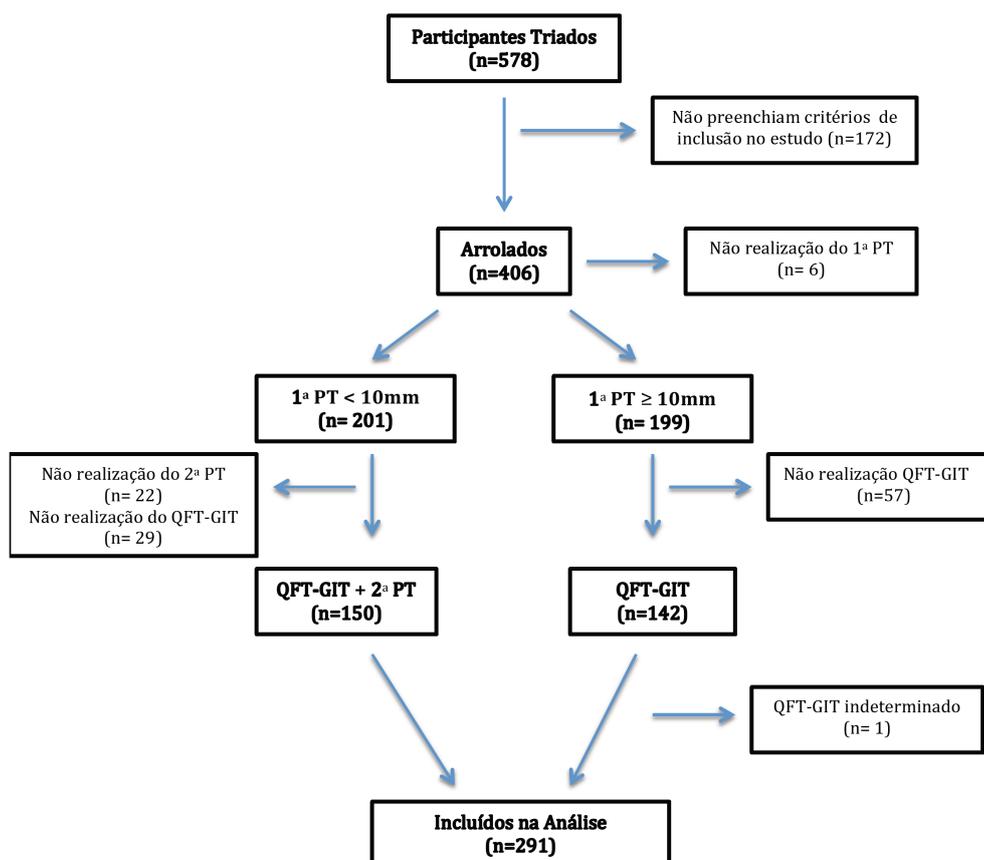


Figura 3. Fluxograma de seleção dos participantes do estudo.

A média e mediana de idade dos participantes foi de 8,7 e de 9 anos, respectivamente. Em relação ao gênero, 53,6% eram do sexo feminino (Tabela 1). Solicitou-se a todos os participantes do estudo que fizessem a tele-radiografia do tórax nas respectivas Unidades de Saúde de referência para cada município. Apesar disto, somente 148 (50,9%) deles a realizaram. Destes 3,1% (9) apresentaram alguma anormalidade ao exame. Quando questionados sobre a presença de sinais e sintomas de TB (tosse por mais de 3 semanas, sudorese noturna, febre, perda de peso) 92,8% negaram. Dos nove voluntários com exame radiológico alterado, somente quatro relataram ter algum dos sinais e sintomas mencionados acima. Entretanto, nenhum caso de tuberculose concomitante ao do caso índice foi confirmado. A cicatriz de vacinação BCG estava presente na quase totalidade dos participantes (95,5%). Do total de voluntários arrolados, 69,8% apresentavam índice de massa corporal (IMC) dentro da faixa de normalidade ajustada para idade e sexo (Tabela 2).

Tabela 1. Características demográficas dos 291 participantes do estudo.

Características	X ou % (n)
Idade (anos) ± dp*	8,7 ± 4,07
≤ 5 anos	21,6% (63)
6 - 15 anos	78,4% (228)
Sexo	
Masculino	46,4% (135)
Feminino	53,6% (156)

*dp= Desvio-padrão

Em relação a história patológica pregressa, nenhum dos indivíduos relatou diagnóstico de HIV, hipertensão, diabetes, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), artrite, câncer, hepatite ou doença renal. Apenas um participante informou fazer uso prolongado de esteróides.

Tabela 2. Características nutricionais, clínicas e laboratoriais dos 291 participantes do estudo.

Características	X ou % (n)
Estado Nutricional - IMC-para-idade e sexo (score-z)	
Normalidade para IMC	69,8% (203)
Baixo peso	9,6% (28)
Excesso de peso	20,6% (60)
Cicatriz BCG	
Presente	95,5% (278)
Ausente	3,1% (9)
Incerta	1,4% (4)
Radiografia de Tórax	
Normal	47,8% (139)
Alterado	3,1% (9)
Não realizado	49,1% (143)
Sintomas TB	
Presentes	7,2% (21)
Ausentes	92,8% (270)
1ª Prova Tuberculínica (n=291)	
Positivo - Forte Reator ($\geq 10\text{mm}$)	48,5% (141)
Negativo - Fraco Reator (5 - 9mm)	5,8% (17)
Negativo - Não Reator (0 - 4mm)	45,7% (133)
2ª Prova Tuberculínica (n=150)	
Positivo - Forte Reator ($\geq 10\text{mm}$)	24,0% (36)
Negativo - Fraco Reator (5 - 9mm)	11,3% (17)
Negativo - Não Reator (0 - 4mm)	64,7% (97)
Resultado QFT-GIT	
Positivo	55,1% (161)
Negativo	44,5% (130)

A primeira PT (semana 1-2), revelou que dos 291 indivíduos, 141 (48,5%) apresentaram induração positiva $\geq 10\text{mm}$ (forte reatores). Dos 150 restantes (51,5%) que haviam sido negativas à PT (induração $< 10\text{mm}$), 36 (24%) passaram a ser considerados positivos (induração $\geq 10\text{mm}$) após a realização da segunda PT (8-12 semanas após). Destes, 30 foram classificados como viragem tuberculínica

(acréscimo de 10mm na induração em relação PT anterior). O resultado do teste QuantiFERON®-TB Gold foi positivo em 161 (55,1%) dos participantes (Tabela 2).

As características epidemiológicas de contato dos participantes com o caso índice, medida pelo tipo de exposição, tempo médio de convivência (em meses) e duração (horas/dia) do contato entre eles, estão descritas na Tabela 3.

Tabela 3. Características epidemiológicas de contato entre casos índices e seus respectivos contatos domiciliares.

Características Epidemiológicas de contato	X ou % (n)
Tempo Convivência com Caso Índice (meses) ± dp*	86,81 ± 55,16
3 - 6 Meses	4,1% (12)
≥ 7 Meses	95,9% (279)
Tipo de Exposição ao Caso Índice	
Dormir no mesmo quarto	25,4% (74)
Dormir no mesmo domicílio	47,1% (137)
Dormir em domicílio diferente	27,5% (80)
Duração do contato (horas/dia) entre o caso índice e o contato domiciliar, durante os 3 meses que precederam o diagnóstico de TB.	
≤ 6 horas	28,9% (84)
7-18 horas	60,5% (176)
> 18 horas	10,6% (31)

*dp= Desvio-padrão

Como mencionado anteriormente, dos 406 voluntários arrolados, 291 concluíram todas as etapas do estudo e 114, por não cumprirem alguns dos procedimentos programados, foram classificados como “exclusão precoce”. Com o intuito de mostrar que a exclusão destes indivíduos não introduziu viés de seleção na amostra, realizamos análise estatística (teste-t e qui-quadrado) comparando os dois grupos em relação as variáveis utilizadas no estudo. Não houve diferença estatisticamente significativa entre eles (Tabela 4).

Tabela 4. Comparação da homogeneidade entre os indivíduos que completaram os procedimentos do estudo e aqueles excluídos precocemente.

Variáveis	Participantes (n=291)	Exclusão Precoce (n=114)	p*
Idade			0,84**
Anos (X ± dp#)	8,7 ± 4,07	7,0 ± 4,60	
Gênero			0,11
Masculino	46.4% (135)	55.3% (63)	
Feminino	53.6% (156)	44.7% (51)	
Cicatriz BCG			0,37
Presente	95.5% (278)	93.0% (106)	
Ausente	3.1% (9)	3.5% (4)	
Incerta	1.4% (4)	3.5% (4)	
IMC-para-idade e sexo (score-z) ##			0,12
Normalidade para IMC	203	83	
Baixo peso	28	4	
Excesso de peso	60	20	
Sintomas de TB			0,94
Presentes	7,2% (21)	7.0% (8)	
Ausentes	92.8% (270)	93.0% (106)	
Radiografia Tórax			0,48
Normal	47.8% (139)	50.0% (57)	
Alterado	3.1% (9)	5.3% (6)	
Não realizado	49.1% (143)	44.7% (51)	
Tempo de convívio com Caso índice			0,80**
Meses (X ± dp#)	86,81 ± 55,16	69,0 ± 56,34	
Tipo de Exposição ao Caso Índice			0,29
Dormir mesmo quarto	25,4% (74)	21.0% (24)	
Dormir mesmo domicílio	47,1% (137)	43,9% (50)	
Dormir domicílio diferente	27,5% (80)	35,1% (40)	
Duração do contato (horas/dia) entre o caso índice e o contato domiciliar, durante os 3 meses que precederam o diagnóstico de TB.			0,69
≤ 6 horas	28,9% (84)	30.7% (35)	
7-18 horas	60,5% (176)	61.4% (70)	
> 18 horas	10,6% (31)	7,9% (9)	

*Qui-quadrado; **Teste-t.

#dp=Desvio-padrão

##Somente 107 indivíduos tinham informação sobre peso e altura.

A concordância global entre os resultados da PT e do QFT-GIT foi de 87,6%, com valor de κ igual a 0,75 [IC 95%: 0,63-0,86]. Foram considerados positivos ou negativos em ambos os testes 151 (51,9%) e 104 (35,7%) participantes respectivamente (Tabela 5).

Tabela 5. Concordância entre os resultados da prova tuberculínica e do QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube*.

		PT		Total	Estatística Kappa*
		Positivo#	Negativo##		
QFT-GIT	Positivo	151	10	161	0,75
	Negativo	26	104	130	
Total		177	114	291	

PT ≥ 10 mm; ## PT < 10 mm.

*Estatística Kappa: $\kappa \leq 0,20$ - leve concordância; $\kappa > 0,20$ a $\leq 0,40$ - baixa concordância; $\kappa > 0,40$ a $\leq 0,60$ - moderada concordância; $\kappa > 0,60$ a $\leq 0,80$ - alta concordância e $\kappa > 0,80$ a $\leq 0,99$ - concordância quase perfeita.

Tabela 6. Concordância entre o resultado do QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube* em relação ao diâmetro de induração da prova tuberculínica.

Induração PT (mm)	QFT-GIT		Total	% Pos	OR*
	Positivo	Negativo			
0-4mm	8	89	97	8,3	1
5-9mm	2	15	17	11,7	1,48
10-14mm	36	16	52	69,2	25,03
≥ 15 mm	115	10	125	92,0	127,94
Total	161	130	291		

*OR: Odds ratio
p<0,0000001

A Tabela 6 mostra a concordância entre o resultado do QFT-GIT estratificado pelo diâmetro de induração da PT. O qui-quadrado para tendências foi altamente significativo, mostrando que quanto maior a induração, maior a positividade do QFT-GIT. A *odds* da positividade foi 1,48 , 25,03 e 127,94 vezes maior comparando os grupos 5-9mm, 10-14mm e ≥ 15 mm, respectivamente, com o grupo 0-4mm (referência).

Tabela 7. Concordância entre os resultados da prova tuberculínica e do QuantiFERON-TB Gold *in tube* de acordo com a faixa etária.

			PT			
			Positivo	Negativo	Total	<i>p</i>
≤ 5 anos	QFT-GIT	Positivo	32	1	33	0,0001*
		Negativo	3	27	30	
		Total	35	28	63	
6-15 anos	QFT-GIT	Positivo	119	9	128	0,0001*
		Negativo	23	77	100	
		Total	142	86	228	

* Qui-Quadrado

O desempenho do QFT-GIT em relação à PT também foi avaliado de acordo com a idade. Para esta análise os participantes do estudo foram estratificados em duas faixas etárias: ≤ 5 anos e 6-15 anos. A concordância entre os testes foi estatisticamente significativa para ambas faixas etárias: 93,65% - κ 0,87 [IC 95%: 0,63-1,12] nos indivíduos com idade ≤ 5 anos e de 85,96% - κ 0,71 [IC 95%: 0,58-0,84] para a faixa etária entre 6-15 anos ($p=0,0001$). Entretanto, a concordância foi maior na faixa etária ≤ 5 anos (Tabela 7).

Os possíveis fatores associados com a positividade da PT e do QFT-GIT também foram avaliados levando-se em consideração as variáveis demográficas, clínicas e epidemiológicas dos participantes.

Tabela 8. Análise da associação entre as variáveis demográficas, clínicas e epidemiológicas com os resultados da prova tuberculínica.

	PT		
	Bivariada		
	Positivo % (n=177)	Negativo % (n=114)	<i>p</i> *
Idade			0,24
Anos (X ± dp#)	8,94 ± 4,14	8,36 ± 3,96	
Gênero			0,45
Masculino	44,6 (79)	49,1 (56)	
Feminino	55,4 (98)	50,6 (58)	
Cicatriz BCG			0,62
Presente	95,5 (169)	93 (106)	
Ausente	3,4 (6)	5,3 (6)	
Incerta	1,1 (2)	1,7 (2)	
Sintomas de TB			0,30
Presentes	8,5 (15)	5,3 (6)	
Ausentes	91,5 (162)	94,7 (108)	
Tempo de convívio com Caso Índice			0,72
Meses (X ± dp#)	87,75 ± 57,07	85,35 ± 52,27	
Tipo de Exposição ao Caso Índice			0,01
Dormir mesmo quarto	29,4 (52)	19,3 (22)	
Dormir mesmo domicílio	49,1 (87)	43,9 (50)	
Dormir domicílio diferente	21,5 (38)	36,8 (42)	
Duração do contato (horas/dia) entre o caso índice e o contato domiciliar, durante os 3 meses que precederam o diagnóstico de TB			0,01
≤ 6 horas	23,2 (41)	37,7 (43)	
7-18 horas	63,3 (112)	56,2 (64)	
> 18 horas	13,5 (24)	6,1 (7)	

**p* ≤ 0,30; #dp=Desvio-padrão

Na análise bivariada, não houve associação estatisticamente significativa entre o resultado da PT e as variáveis gênero, presença de cicatriz de vacinação BCG e tempo de convivência (meses) com o caso índice (Tabela 8). As variáveis que apresentaram potencial associação com a positividade da prova tuberculínica foram: idade ($p=0,24$), possuir sintomas de TB ($p=0,30$), tipo de exposição ao caso índice ($p=0,01$) e o tempo de duração (horas/dia) do contato com o caso índice ($p=0,01$) (Tabela 8). Estas variáveis compuseram os modelos de regressão logística descritos a seguir (Tabela 9 e 10).

Tabela 9. Modelo inicial - regressão logística da associação entre as características demográficas, clínicas e epidemiológicas com os resultados da prova tuberculínica.

PT	Odds ratio	IC 95%	Z	p
Idade	0,005*	-0,002 – 0,104	1,42	0,16
Sintomas de TB				
Presentes	Ref			
Ausentes	2,11	0,77 – 5,83	1,45	0,15
Tipo de Exposição ao Caso Índice				
Dormir domicílio diferente	Ref			
Dormir mesmo domicílio	1,49	0,75 – 2,96	1,15	0,10
Dormir mesmo quarto	1,96	0,87 – 4,40	1,63	0,25
Duração do contato (horas/dia) entre o caso índice e o contato domiciliar, durante os 3 meses que precederam o diagnóstico de TB				
≤ 6 horas	Ref			
7-18 horas	1,38	0,71 – 2,68	0,97	0,33
> 18 horas	2,68	0,91 – 7,91	1,80	0,07

*b (coeficiente de regressão)

Log likelihood = -186,90

Na análise multivariada para a PT, a única variável que permaneceu no modelo final foi o tempo de duração do contato com o caso índice (horas/dia). A positividade do teste aumentou 1,84 vezes (IC95%: 1,08-3,11) nos participantes que

relatavam período de contato com o caso índice de 7-18 horas/dia em relação aqueles cujo contato era ≤ 6 horas/dia (referência). A positividade foi ainda maior - 3,60 vezes (IC95% 1,40-9,25), nos indivíduos cujo período de contato foi superior a 18 horas/dia (Tabela 10).

Tabela 10. Modelo final - regressão logística da associação entre as características demográficas, clínicas e epidemiológicas, com os resultados da prova tuberculínica.

PT	Odds ratio	IC 95%	Z	p
Duração do contato (horas/dia) entre o caso índice e o contato domiciliar, durante os 3 meses que precederam o diagnóstico de TB				
≤ 6 horas	Ref			
7-18 horas	1,84	1,08 – 3,11	2,26	0,024
> 18 horas	3,60	1,40 – 9,25	2,66	0,008

Log likelihood = -190,12

Em relação aos resultados do QFT-GIT, a análise bivariada mostrou não haver associação estatisticamente significativa para as variáveis gênero, presença de cicatriz de vacinação BCG e presença de sintomas de TB. As variáveis que apresentaram uma potencial associação com a positividade do QFT-GIT foram: idade ($p=0,24$), tempo de convívio (meses) com caso índice ($p=0,16$), tipo de exposição ao caso índice ($p=0,0001$) e tempo do contato (horas/dia) dos comunicantes com o caso índice ($p=0,005$) (Tabela 11). Estas variáveis compuseram os modelos de regressão logística descritos a seguir (Tabelas 12 e 13).

Tabela 11. Análise da associação entre as variáveis demográficas, clínicas e epidemiológicas com os resultados do QuantiFERON®-TB Gold *in tube*.

	QFT-GIT		
	Bivariada		
	Positivo % (n=161)	Negativo % (n=130)	<i>p</i> *
Idade			0,24
Anos (X ± dp#)	8,97 ± 4,12	8,40 ± 4,02	
Gênero			0,94
Masculino	46,6 (75)	46,2 (60)	
Feminino	53,4 (86)	53,8 (70)	
Cicatriz BCG			0,91
Presente	95,0 (153)	93,9 (122)	
Ausente	3,7 (6)	4,6 (6)	
Incerta	1,3 (2)	1,5 (2)	
Sintomas de TB			0,78
Presentes	6,8 (11)	7,7 (10)	
Ausentes	93,2 (150)	92,3 (120)	
Tempo de convívio com Caso Índice			0,16
Meses (X ± dp#)	90,87 ± 55,7	81,8 ± 54,3	
Tipo de Exposição ao Caso Índice			0,0001
Dormir mesmo quarto	32,3 (52)	16,9 (22)	
Dormir mesmo domicílio	49,1 (79)	44,6 (58)	
Dormir domicílio diferente	18,6 (30)	38,5 (50)	
Duração do contato (horas/dia) entre o caso índice e o contato domiciliar, durante os 3 meses que precederam o diagnóstico de TB			0,005
≤ 6 horas	23,0 (37)	36,1 (47)	
7-18 horas	62,1 (100)	58,5 (76)	
> 18 horas	14,9 (24)	5,4 (7)	

**p* ≤ 0,30;

#dp=Desvio-padrão

Na análise multivariada para o QFT-GIT, permaneceram no modelo final as variáveis: tempo de convívio (meses) com o caso índice, tipo de exposição e tempo de duração do contato com o caso índice (horas/dia). A positividade do QFT-GIT aumentou 0,005 (IC95% 0,001-0,009) para cada mês de aumento no convívio (quantitativa). O fato de dormir no mesmo domicílio do caso índice aumentou a chance de positividade do teste em 2,05 vezes (IC95% 1,02-4,12) quando comparado aos resultados dos participantes que não dormiam no mesmo domicílio (referência). Dormir no mesmo quarto do caso índice ocasionou um incremento de 3,39 vezes (IC95% 1,49-7,71) na positividade do QFT-GIT quando comparado a dormir em domicílio diferente (referência). A probabilidade do QFT-GIT ser positivo foi 2,62 vezes maior (IC95% 0,90-7,94) naqueles indivíduos que tiveram mais que 18 horas/dia de contato com o caso índice em relação aqueles cujo contato foi ≤ 6 horas/dia ($p=0,09$, no limite da significância estatística) (Tabela 13).

Tabela 12. Modelo inicial - regressão logística da associação entre as características demográficas, clínicas e epidemiológicas, com o resultado do teste QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube*.

QFT-GIT	Odds ratio	IC 95%	Z	p
Idade	0,012*	-0,074 – 0,097	0,27	0,79
Tempo de convívio com Caso índice (meses)	0,004*	-0,002 – 0,010	1,26	0,21
Tipo de Exposição ao Caso Índice				
Dormir domicílio diferente	Ref			
Dormir mesmo domicílio	2,05	1,02 – 4,12	2,03	0,043
Dormir mesmo quarto	3,39	1,49 – 7,71	2,91	0,004
Duração do contato (horas/dia) entre o caso índice e o contato domiciliar, durante os 3 meses que precederam o diagnóstico de TB				
≤ 6 horas	Ref			
7-18 horas	0,93	0,48 – 1,82	-0,21	0,83
> 18 horas	2,58	0,85 – 7,84	1,67	0,09

*b (coeficiente de regressão)

Log likelihood = -187,82

Tabela 13. Modelo final - regressão logística da associação entre as características demográficas, clínicas e epidemiológicas, com o resultado do teste QuantiFERON®-TB Gold *in tube*.

QFT-GIT	Odds ratio	IC 95%	Z	p
Tempo de convívio com Caso índice (meses)	0,005*	0,001 – 0,009	1,98	0,047
Tipo de Exposição ao Caso Índice				
Dormir domicílio diferente	Ref			
Dormir mesmo domicílio	2,05	1,02 – 4,12	2,03	0,043
Dormir mesmo quarto	3,39	1,49 – 7,71	2,91	0,004
Duração do contato (horas/dia) entre o caso índice e o contato domiciliar, durante os 3 meses que precederam o diagnóstico de TB				
≤ 6 horas	Ref			
7-18 horas	0,94	0,48 – 1,83	-0,19	0,85
> 18 horas	2,62	0,90 – 7,94	1,71	0,09

*b (coeficiente de regressão)

Log likelihood = -187,86

Discussão

5 DISCUSSÃO

Esta dissertação, cujo objetivo principal foi o de avaliar a concordância entre a prova tuberculínica e o QuantiFERON[®]-TB Gold *in tube* no diagnóstico da ILTB, é parte de um estudo sobre a transmissão da tuberculose entre contatos domiciliares de casos índices com acometimento pulmonar da doença.

O nosso estudo incluiu 291 participantes na faixa etária entre seis meses e 15 anos e é a segunda maior casuística da literatura sobre o tema até o momento envolvendo população pediátrica com TL, diagnóstico este reforçado pela ausência de casos secundários da doença durante os 12 meses de vigilância passiva realizada após a inclusão dos voluntários no estudo. Nosso estudo foi também o primeiro a demonstrar uma elevada concordância entre a PT e o QFT-GIT ($\kappa=0,75$ IC 95%: 0,63-0,86). Acreditamos que a alta concordância esteja relacionada ao desenho do estudo, que estabeleceu um intervalo temporal de dois meses para realização dos testes a partir da identificação do caso índice. Um único estudo com concordância semelhante ao nosso foi o publicado por Verhagen e colaboradores (2014). Neste estudo, realizado na Venezuela, os autores avaliaram 163 crianças com até 15 anos de idade, pertencentes à etnia indígena Warao Amerindian, que eram contatos domiciliares de casos índices notificados ao sistema de saúde venezuelano. Apesar dos autores terem encontrado concordância elevada entre os testes ($k=0,76$ IC 95%: 0,46-1,06), sua casuística incluiu 11 casos concomitantes de doença pulmonar detectados na primeira triagem, além de 41% de crianças com sequelas de TB ao exame radiológico do tórax (calcificações e/ou fibrose e/ou bronquiectasias). Como os autores não utilizaram a variável “contato prévio com tuberculose” como critério de exclusão, estes achados nos levam a crer que estas crianças já haviam sido expostas anteriormente, ou que os casos índices notificados poderiam ser casos secundários a casos índices anteriores dentro da própria família. A concordância substancial entre os testes, seria portanto secundária à um período longo de exposição à doença. O efeito temporal entre a realização dos testes a partir da detecção do caso índice mencionado no nosso estudo, teria também ocorrido no estudo de Verhagen e colaboradores (2014), porém com a longa

exposição à doença àquela população. Neste caso, o resultado da concordância entre os testes não teria utilidade epidemiológica prática na tomada de decisão sobre a instituição do tratamento da TL, uma vez que o momento da exposição não pôde ser estabelecido com mais precisão. Prova disto foi a detecção de 11 casos concomitantes da doença entre as crianças arroladas.

Todos os outros trabalhos da literatura, com objetivos e/ou metodologias semelhantes ao nosso, apresentaram concordância moderada/baixa. Novamente a principal diferença entre o nosso estudo e os demais, diz respeito ou ao momento em que os testes foram realizados, ou em alguns casos, ao ponto de corte de 5mm para positividade da PT, ao invés dos 10mm utilizados no nosso estudo.

Um estudo realizado na África do Sul, por Shah e colaboradores (2011), mostrou um aumento da positividade nos dois testes em intervalo temporal de seis meses da realização entre eles (PT de 28% para 33% e QFT-GIT de 29% para 38%). Esses dados reforçam novamente nossa hipótese sobre a necessidade de um intervalo de tempo para que a ativação do sistema imunitário ocorra de forma a induzir as respostas que estão sendo avaliadas. O mesmo grupo de pesquisadores (KASAMBIRA *et al.*, 2011), avaliando a mesma população do estudo acima, mostrou não haver diferença na concordância entre os dois testes, que foi considerada moderada, quando se comparou os dois pontos de corte para a PT (5mm – k 0,58 e 10mm – k 0,54). Além dos autores não terem incluído os intervalos de confiança nos resultados do teste Kappa, os critérios de inclusão não excluía pacientes portadores do vírus HIV (5,2% dos arrolados), o que poderia explicar os resultados obtidos.

Nakaoka e colaboradores (2006) em estudo realizado em Abuja (Nigéria), avaliaram 78 crianças contatos de pacientes bacilíferos (cultura e baciloscopia positiva) e realizaram a PT e QFT-GIT em tempo igual ou superior a três meses do diagnóstico do caso índice. Os resultados mostraram uma concordância moderada entre os testes ($k=0,498$). Além do pequeno número de indivíduos avaliados, os autores não informaram os intervalos de confiança do teste Kappa, nem o índice de massa corpórea das crianças do estudo. Os autores também não relataram o status do HIV na população estudada com o argumento de que não haveria razão clínica para obtenção deste dado. Entretanto, estudo sobre a taxa de infecção pelo vírus

HIV em mulheres em idade reprodutiva na Nigéria, mostrou prevalência elevada (12,4%), o que poderia justificar os resultados encontrados (IKEAKO *et al.*, 2014).

Na nossa casuística não havia desnutrição ou qualquer imunodeficiência que pudesse interferir na positividade dos testes utilizados. Tanto o estado nutricional como o status imunológico são fatores importantes e devem ser levados em consideração na avaliação de qualquer teste cujo resultado dependa da resposta imunitária (HAUSTEIN *et al.*, 2009). Jenum e colaboradores (2014) destacam que a desnutrição pode influenciar negativamente na sensibilidade tanto da PT quanto do QFT-GIT mesmo em crianças com a doença.

Em relação à vacina BCG, a cicatriz vacinal estava presente em 95,5% dos indivíduos do nosso estudo, como seria esperado em um país onde a vacinação é recomendada nas primeiras 48 horas de vida em crianças com peso superior a 2000g, e obrigatória no primeiro ano de vida. Como mencionado na introdução, as proteínas utilizadas no teste QuantiFERON[®]-TB Gold não estão presentes na cepa de *M. bovis* usada na confecção da vacina BCG, e portanto não há possibilidade de reações cruzadas nesta situação. Esta mesma afirmativa não é consenso para a PT (MORI *et al.*, 2004; BROCK *et al.*, 2004; KANG, *et al.*, 2005). Por este motivo realizamos análise bivariada para cada teste, que demonstrou não haver associação estatisticamente significativa entre a presença de cicatriz vacinal e a positividade dos dois testes. Esta correlação também foi feita no estudo da Venezuela (VERHAGEN *et al.*, 2014), que assim como o nosso, mostrou não haver associação entre a presença de cicatriz do BCG e a positividade dos testes. Estes dados vêm fortalecer os resultados encontrados por Farhat e colaboradores (2006) em artigo de revisão sobre assunto, que concluíram ser mínimo o efeito do BCG sobre o resultado da PT.

Nosso estudo apresentou duas limitações potenciais. A primeira, estaria relacionada às exclusões precoces. Os voluntários arrolados que não cumpriram alguns dos procedimentos programados foram retirados do estudo. Entretanto, apesar do número razoável de exclusões (114), elas não induziram à vício de seleção, descartado através da realização de análise estatística (teste-t e qui-quadrado) que não mostrou diferença em relação às variáveis estudadas entre os dois grupos (excluídos e participantes) indicando que os motivos das exclusões não estavam associados ao risco de desenvolver tuberculose. A segunda limitação,

refere-se a não realização da radiografia de tórax em quase metade dos participantes, que ficou sob a responsabilidade dos programas de controle da tuberculose dos respectivos municípios de residência das famílias arroladas. Este exame embora útil na tomada de decisão sobre a necessidade de instituição do tratamento da TL não interferiu nos resultados dos dois testes avaliados. Acreditamos que o percentual de indivíduos que realizaram a radiografia de tórax tenha sido maior do que o número reportado no nosso estudo uma vez que, por problemas burocráticos ou por indisponibilidade momentânea do exame radiológico, muitos pacientes o realizaram mais tardiamente, ultrapassando portanto os dois meses de seguimento ativo dos contatos.

No nosso estudo, a análise de tendência realizada entre os resultados do QFT-GIT e os diâmetros de induração da PT foi estatisticamente significativa, ou seja, quanto maior a induração da reação maior a probabilidade de positividade do QFT-GIT. A chance de positividade ao QFT-GIT foi respectivamente 1,5, 25,0 e 128,0 vezes maior para as indurações de 5-9mm, 10-14mm e ≥ 15 mm, quando comparados ao grupo referência (0-4mm). Estudos anteriores demonstraram uma boa correlação entre esses resultados, tanto na população pediátrica, quanto em adultos (CONVERSE, JONES, ASTEMBORSKI, 1997; POTTUMARTHY *et al.*, 1999; ONUR *et al.*, 2012). Os resultados das razões de chance mostrados acima nos levam a refletir sobre o atual ponto de corte da PT adotado pelo MS, que considera como positiva uma reação ≥ 5 mm em indivíduos com vacinação BCG há mais de 2 anos, com exposição recente a pacientes bacilíferos (tempo de exposição < 2 anos). A adoção de um ponto de corte imediatamente superior ao adotado pelo MS poderia reduzir substancialmente o número de quimioprofilaxias desnecessárias que certamente ocorrem na situação atual. De forma semelhante, não haveria aplicabilidade na utilização do QFT-GIT para confirmação da TL em pacientes com leitura da PT acima de 10mm, uma vez que a chance de positividade do QFT-GIT é 25 vezes maior para uma PT nesta situação.

O desempenho do QFT-GIT em relação à PT apesar de ser estatisticamente significativa nas faixas etárias ≤ 5 anos e entre 6-15 anos, foi superior nas crianças com idade ≤ 5 anos (93,65% - κ 0,87, IC 95%: 0,63-1,12) versus (85,96% - κ 0,71, IC 95% 0,58-0,84). A alta concordância entre os testes na faixa etária ≤ 5 anos carece ainda de uma explicação, mas é provável que esteja relacionada à uma imaturidade

da modulação no sistema imunológico neste faixa etária.

Outra avaliação realizada no nosso estudo foi a associação entre as características demográficas, clínicas e epidemiológicas dos contatos em relação aos resultados dos testes. Após regressão logística verificamos que para ambos os testes, a variável “duração do contato (horas/dia) entre o caso índice e seus contatos durante os três meses que precederam o diagnóstico de TB” estava associada à positividade dos mesmos e foi diretamente proporcional ao tempo de exposição: PT - 7-18hrs/dia (OR 1,84 CI 95% 1,08 - 3,11) / >18hrs/dia (OR 3,60 CI 95% 1,40 - 9,25), e QFT-GIT - 7-18hrs/dia (OR 0,94 CI 95% 0,48 - 1,83) / >18hrs/dia (OR 2,62 CI 95% 0,90 - 7,94). Somente para o QFT-GIT, outras duas variáveis também estavam associadas à positividade do teste: “tempo de convívio com o caso índice em meses” e “tipo de exposição ao caso índice”. Apesar destas variáveis medirem indiretamente o tempo de exposição ao caso índice, elas não estiveram associadas à PT. A provável explicação plausível para o caso seria uma incorreção no momento da coleta dos dados pelo fato destas variáveis estarem sujeitas à viés de memória.

Conclusões

6 CONCLUSÕES

1. A concordância entre os testes foi elevada na faixa etária estudada (6 meses - 15 anos), não havendo vantagem na utilização do QFT-GIT em relação à PT.
2. Comparando a metodologia dos poucos estudos disponíveis na literatura sobre a utilização dos testes na população pediátrica podemos inferir que a realização dos testes no segundo mês após identificação do caso índice seria tempo suficiente para o diagnóstico da TL.
3. Os pontos de corte na leitura da PT relacionaram-se com a positividade do teste QFT-GIT i.e. quanto maior a induração da reação, maior a probabilidade de positividade do teste QFT-GIT.
4. A positividade da PT e do QFT-GIT está associada com o “tempo de contato (horas/dia) entre o caso índice e seus contatos domiciliares durante os três meses que precederam o diagnóstico de TB”.

Referências

7 REFERÊNCIAS

ADETIFA, I. M., OTA M. O., JEFFRIES, D. J., HAMMOND, A., LUGOS, M. D., DONKOR, S., PATRICK, O., ADEGBOLA, R. A. e HILL, P. C. 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**, v.29, n.5, May, p. 439-343. 2010.

AHMAD, S. Pathogenesis, immunology, and diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. **Clin Develop Immunol**, v. 2011, p. 1-17, 2011.

AFFRONTI, L. F., CAPRIO, J. J., EDWARDS, P. Q., FURCULOW, M. L., GRZYBOWSKI, S., KATZ, J., HESSE, F. E. e SEIBERT, F. B. What is PPD-S? A statement by the Committee on Diagnostic Skin Testing. **Am Rev Respir Dis**, v.99, n.3, Mar, p. 460-461. 1969.

ALTET-GÓMEZ, N., DE SOUZA-GALVAO, M., LATORRE, I., MILÀ, C., JIMÉNEZ, M. A., SOLSONA, J., CANTOS, A., ZAMORA, J. J., RUIZ-MANZANO, J., AUSINA, V. e DOMÍNGUEZ, J. Diagnosing TB infection in children: analysis of discordances using in vitro tests and the tuberculin skin test. **Eur Respir J**. v. 37, n.5, May. 2011.

ANDERSEN, P., MUNK, M. E., POLLOCK, J. M. e DOHERTY, T. M. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. **Lancet**, v.356, n.9235, Sep, p. 1099-1104. 2000.

ARAUJO, Z., ACOSTA, M., ESCOBAR, H., BAÑOS, R., FERNÁNDEZ DE LARREA, C. e RIVAS-SANTIAGO, B. Respuesta inmunitaria en tuberculosis y el papel de los antígenos de secreción de *Mycobacterium tuberculosis* em la protección, patología y diagnóstico. **Invest Clin**, v.49, n.3, Sep, p. 411-441. 2008.

ARAÚJO, A. C. T. & CAMPOS, J. A. D. B. Subsídios para a avaliação do estado nutricional de crianças e adolescentes por meio de indicadores antropométricos. **Alim Nutr**, v. 19, n.2, Abr/Jun, p. 219-225. 2008.

AREND, S. M., VAN MEIJGAARDEN, K. E., DE BOER, K., DE PALOU, E. C., VAN SOOLINGEN, D., OTTENHOFF, T. H. e VAN DISSEL, J. T. 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**, v.186, n.12, Dec, p. 1797-1807. 2002.

BALASUBRAMANIAN, V., WIEGESHAUS, E. H., TAYLOR, B. T. e SMITH, D. W. Pathogenesis of tuberculosis: pathway to apical localization. **Tuber Lung Dis**, v.75,

n.3, Jun, p. 168-178. 1994.

BEHAR, S. M. Antigen-specific CD8⁺ T cells and protective immunity to tuberculosis. **Adv Exp Med Biol**, v.783, p. 141-163. 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. Centro de Referência Professor Hélio Fraga. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. **Controle da tuberculose: uma proposta de integração ensino-serviço**. 5. ed., Rio de Janeiro, 2002.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Técnicas de aplicação e leitura da prova tuberculínica**. 1.ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria Executiva. **DATASUS**. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br>>. Acesso em: 04 de Agosto de 2014.

BROCK, I., WELDINGH, K., LILLEBAEK, T., FOLLMANN, F. e ANDERSEN, P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. **Am J Respir Crit Care Med**, v.170, n.1, Jul, p. 65-69. 2004.

BURKE, D. S. Of postulates and peccadilloes: Robert Koch and vaccine (tuberculin) therapy for tuberculosis. **Vaccine**, v.11, p. 795-804. 1993.

CACCAMO, N., GUGGINO, G., JOOSTEN, S. A., GELSOMINO, G., DI CARLO, P., TITONE, L., GALATI, D., BOCCHINO, M., MATARESE, A., SALERNO, A., SANDUZZI, A., FRANKEN, W. P., OTTENHOFF, T. H. e DIELI, F. Multifunctional CD4⁺ T cells correlate with active Mycobacterium tuberculosis infection. **Eur J Immunol**, v.40, n.8, Aug, p. 2211-2220. 2010.

CARDONA, P. J. e RUIZ-MANZANO, J. On the nature of Mycobacterium tuberculosis-latent bacilli. **Eur Respir J**, v.24, n.6, Dec, p.1044-1051. 2004.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Tuberculosis (TB) in children in the United States**. 2014. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/tb/topic/populations/TBinChildren/default.htm#tbChildren>>. Acesso em: 20 de Novembro de 2014.

- CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Tuberculosis transmission in a state correctional institution - California, 1990-1991. **JAMA**, v.269, n.2, Jan, p. 200-202. 1993.
- CHEN, X., ZHOU, B., LI, M., DENG, Q., WU, X., LE, X., WU, C., LARMONIER, N., ZHANG, W., ZHANG, H., WANG, H. e KATSANIS, E. CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ regulatory T cells suppress Mycobacterium tuberculosis immunity in patients with active disease. **Clin Immunol**, v.123, n.1, Apr, p. 50-59. 2007.
- CHUN, J. K., KIM, C. K., KIM, H. S., JUNG, G. Y., LEE, T. J., KIM, K. H. e KIM, D. S. The role of a whole blood interferon-gamma assay for the detection of latent tuberculosis infection in Bacille Calmette-Guérin vaccinated children. **Diagn Microbiol Infect Dis**. v.62, n.4, Dec, p.389-394. 2008.
- COLLINS, C. H., GRANGE, J. M. e YATES, M. D. Tuberculosis bacteriology: organization and practice. 2. ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1997.
- CONNELL, T. G., RITZ, N., PAXTON, G. A., BUTTERY, J. P., CURTIS, N. e RANGANATHAN, S. C. A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB gold and T-SPOT.TB in children. **PLoS One**. v.3, n.7, Jul, e2624. 2008.
- CONVERSE, P. J., JONES, S. L., ASTEMBORSKI, J., VLAHOV, D. e GRAHAM, N. M. Comparison of a tuberculin interferon-gamma assay with the tuberculin skin test in high-risk adults: effect of human immunodeficiency virus infection. **J Infect Dis**, v.176, n.1, Jul, p.144-150. 1997.
- COOPER, A. M., DALTON, D. K., STEWART, T. A., GRIFFIN, J. P., RUSSELL, D. G. e ORME, I. M. Disseminated tuberculosis in interferon gamma gene-disrupted mice. **J Exp Med**, v.178, n.6, Dec, p. 2243-2247. 1993.
- DANNENBERG, A. M. Jr. Immune mechanism in the pathogenesis of pulmonary tuberculosis. **Rev Infect Dis**, v.11 Suppl 2, Mar-Apr, p. S369-378. 1989.
- DANNENBERG, A. M. JR. Roles of cytotoxic delayed-type hypersensitivity and macrophage-activating cell-mediated immunity in the pathogenesis of tuberculosis. **Immunobiology**, v.191, n.4-5, Oct, p. 461-473. 1994.
- DI PERRI, G., CADEO, G. P., CASTELLI, F., MICCIOLO, R., BASSETTI, S., RUBINI, F., CAZZADORI, A., MAROCCO, S., CARLOTTO, A., ADAMI T, VENTO, S., MALENA, M., CAROSI, G. P., CONCIA, E. e BASSETTI, D. Transmission of HIV-associated tuberculosis to healthcare workers. **Infect Control Hosp Epidemiol**, v.14, n.2, Feb, p. 67-72. 1993.

DIETZE, R., HADAD, D. J., PEREIRA, F. E. L. e RODRIGUES, R. R. Tuberculose. In: Rocha, M.O.C.; Pedrosa, E.R.P. (Eds). Fundamentos em Infectologia. Ltd, Editora Rubio. Rio de Janeiro, Brasil. 2009. p. 703-738.

DONALD, P. R. Childhood tuberculosis. **Curr Opin Pulm Med**, v.6, n.3, May, p. 187-192. 2000.

DUTTA, N. K. e KARAKOUSIS, P. C. Latente tuberculosis infection: myths, models, and molecular mechanisms. **Microbiol Mol Biol Rev**, v.78, n.3, Sep, p.343-371. 2014.

EDWARDS, K. The diagnosis of childhood tuberculosis. **P N G Med J**, v.30, n.2, p. 169-178. 1987.

FARHART, C. K., CARVALHO, E. S. e CARVALHO, L. H. F. R. Infectologia Pediátrica. 2. ed. Editora: Atheneu, São Paulo. 1999.

FARHAT, M., GREENAWAY, C., PAI, M. e MENZIES, D. False-positive tuberculin skin tests: what is the absolute effect of BCG and non-tuberculous mycobacteria? **Int J Tuberc Lung Dis**, v.10, n.11, Nov, p. 1192-1204. 2006.

FEJA, K. e SAIMAN, L. Tuberculosis in children. **Clin Chest Med**, v. 26, n.2, Jun, p. 295-312. 2005.

FLYNN, J. L., CHAN, J., TRIEBOLD, K. J., DALTON, D. K., STEWART, T. A. e BLOOM, B. R. An essential role for interferon gamma in resistance to Mycobacterium tuberculosis infection. **J Exp Med**, v.178, n.6, Dec, p.2249-2254. 1993.

FONTENOT, J. D., GAVIN, M. A. e RUDENSKY, A. Y. Foxp3 programs: the development and function of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells. **Nat Immunol**, v.4, n.4, Apr, p. 330-336. 2003.

FOURIE, P. B., BECKER, P. J., FESTENSTEIN, F., MIGLIORI, G. B., ALCAIDE, J., ANTUNES, M., AUREGAN, G., BEYERS, N., CARVALHO, J.M., CRUZ, J. R. FANNING, E. A., GIE, R., HUONG, N. D. e LEITCH, A. G. Procedures for developing a simple scoring method based on unsophisticated criteria for screening children for tuberculosis. **Int J Tuberc Lung Dis**, v.2, n.2, Feb, p.116-123. 1998.

FOX, W., ELLARD, G. A. e MITCHISON, D. A. Studies on the treatment of tuberculosis undertaken by the British Medical Research Council tuberculosis units, 1946–1986, with relevant subsequent publications. **Int J Tuberc Lung Dis**, v.3 Suppl 2, Oct, p. S231-279. 1999.

GELDMACHER, C., SCHUETZ, A., NGWENYAMA, N., CASAZZA, J. P., SANGA, E., SAATHOFF, E., BOEHME, C., GEIS, S., MABOKO, L., SINGH, M., MINJA, F., MEYERHANS, A., KOUP, R. A. e HOELSCHER, M. Early depletion of Mycobacterium tuberculosis-specific T helper 1 cell responses after HIV-1 infection. **J Infect Dis**, v.198, n.11, Dec, p. 1590-1598. 2008.

GELUK, A., VAN MEIJGAARDEN, K. E., FRANKEN, K. L., SUBRANTO, Y. W., WIELES, B., AREND, S. M., SAMPAIO, E. P., DE BOER, T., FABER, W. R., NAAFS, B. e OTTENHOFF, T. H. Identification and characterization of the ESAT-6 homologue of *Mycobacterium leprae* and T-cell cross-reactivity with Mycobacterium tuberculosis. **Infect Immun**, v.70, n.5, May, p. 2544-2548. 2002.

GELUK, A., VAN MEIJGAARDEN, K. E., FRANKEN, K. L., WIELES, B., AREND, S. M., FABER, W. R., NAAFS, B. e OTTENHOFF, T. H. Immunological crossreactivity of the Mycobacterium leprae CFP-10 with its homologue in Mycobacterium tuberculosis. **Scand J Immunol**, v.59, n.1, Jan, p. 66-70. 2004.

GRZYBOWSKI, S. e ALLEN, E. A. The challenge of tuberculosis in decline. A study based on the epidemiology of tuberculosis in Ontario, Canada. **Am Rev Respir Dis**, v.90, Nov, p.707-720. 1964.

GRZYBOWSKI, S., BARNETT, G. D. e STYBLO, K. Contacts of cases of active pulmonary tuberculosis. **Bull Int Union Tuberc**, v.50, n.1, p. 90-106. 1975.

GULD, J., BENTZON, M. W., BLEIKER, M. A., GRIEP, W. A., MAGNUSSON, M. e WAALER, H. Standardization of a new batch of purified tuberculin (PPD) intended for international use. **Bull World Health Organ**, v.19, n.5, p.845-951. 1958.

GUYOT-REVOL, V., INNES, J. A., HACKFORTH, S., HINKS, T. e LALVANI, A. Regulatory T cells are expanded in blood and disease sites in patients with tuberculosis. **Am J Respir Crit Care Med**, v.173, n.7, Apr, p. 803-810. 2006.

HAUSTEIN, T., RIDOUT, D. A., HARTLEY, J. C., THAKER, U., SHINGADIA, D., KLEIN, N. J., NOVELLI, V. e DIXON, G. L. 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**, v.28, n.8, p. 669-673. 2009.

HOUBEN, E. N., NGUYEN, L. e PIETERS, J. Interaction of pathogenic mycobacteria with the host immune system. **Curr Opin Microbiol**, v.9, n.1, Feb, p.76-85. 2006.

HOUGARDY, J. M., SCHEPERS, K., PLACE, S., DROWART, A., LECHEVIN, V.,

VERSCHEURE, V., DEBRIE, A. S., DOHERTY, T. M., VAN VOOREN, J. P., LOCHT, C. e MASCART, F. Heparin-binding-hemagglutinin-induced IFN-gamma release as a diagnostic tool for latent tuberculosis. **PLoS One**, v.2, n.10, Oct, p. e926, 2007.

HOUK, V. N., BAKER, J. H., SORENSEN, K. e KENT, D. C. The epidemiology of tuberculosis infection in a closed environment. **Arch Environ Health**, v.16, n.1, Jan, p. 26-35. 1968.

HOUWERT, K. A., BORGGREVEN, P. A., SCHAAF, H. S., NEL, E., DONALD, P. R. e STOLK, J. Prospective evaluation of World Health Organization criteria to assist diagnosis of tuberculosis in children. **Eur Respir J**, v.11, n.5, May, p. 1116-1120. 1998.

IKEAKO, L., EZEGWUI, H., AJAH, L., DIM, C. e OKEKE, T. Seroprevalence of Human Immunodeficiency Virus, Hepatitis B, Hepatitis C, Syphilis, and Co-infections among Antenatal Women in a Tertiary Institution in South East, Nigeria. **Ann Med Health Sci Res**, v.4, n.6, Nov, p.954-958. 2014.

JENUM, S., SELVAM, S., MAHELAI, D., JESURAJ, N., CÁRDENAS, V., KENNETH, J., HESSELING, A. C., DOHERTY, T. M., VAZ, M. e GREWAL, H. M. Influence of age and nutritional status on the performance of the tuberculin skin test and QuantiFERON-TB gold *in-tube* in young children evaluated for tuberculosis in Southern India. **Pediatr Infect Dis J**, v.33, n.10, Oct, p.e260-269. 2014.

JONES-LÓPEZ, E. C., KIM, S., FREGONA, G. MARQUES-RODRIGUES, P., HADAD, D. J., MOLINA, L. P., VINHAS, S., REILLY, N., MOINE, S., CHAKRAVORTY, S., GAEDDERT, M., RIBEIRO-RODRIGUES, R., SALGAME, P., PALACI, M., ALLAND, D., ELNNER, J. J. e DIETZE, R. Importance of cough and M. tuberculosis strain type as risks for increased transmission within households. **PLoS One**, v.9, n.7, Jul, p. 1-12. 2014.

JONES-LÓPEZ, E. C., NAMUGGA, O., MUMBOWA, F., SSEBIDANDI, M., MBABAZI, O., MOINE, S., FOX, M. P., REILLY, N., AYAKAKA, I., KIM, S., OKWERA, A., JOLOBA, M. e FENNELLY, K. P. Cough aerosols of Mycobacterium tuberculosis predict new infection: a household contact study. **Am J Respir Crit Care Med**, v.187, n.9, May, p. 1007-1015. 2013.

KANG, Y. A., LEE, H. W., YOON, H. I., CHO, B., HAN, S. K., SHIM, Y. S. e YIM, J. J. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. **JAMA**, v.293, n.22, Jun, p. 2756-2761. 2005.

- KANTOR, H. S., POBLETE, R. e PUSATERI, S. L. Nosocomial transmission of tuberculosis from unsuspected disease. **Am J Med**, v.84, n.5, May, p. 833-838. 1988.
- KASAMBIRA, T. S., SHAH, M., ADRIAN, P. V., HOLSHOUSER, M., MADHI, S. A., CHAISSON, R. E., MARTINSON, N. A. e DORMAN, S. E. QuantiFERON-TB Gold In-Tube for the detection of Mycobacterium tuberculosis infection in children with household tuberculosis contact. **Int J Tuberc Lung Dis**, v.15, n.5, May, p.628-634. 2011.
- KEANE, J., GERSHON, S., WISE, R. P., MIRABILE-LEVENS, E., KASZNICA, J., SCHWIETERMAN, W. D., SIEGEL, J. N. e BRAUN, M. M. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. **N Engl J Med**, v.345, n.15, Oct, p. 1098-1104. 2001.
- LALVANI, A., BROOKES, R., WILKINSON, R. J., MALIN, A. S., PATHAN, A. A., ANDERSEN, P., DOCKRELL, H., PASVOL, G. e HILL, A. V. Human cytolytic and interferon gamma-secreting CD8⁺ T lymphocytes specific for Mycobacterium tuberculosis. **Proc Natl Acad Sci U.S.A**, v.95, n.1, Jan, p. 270-275. 1998.
- LARSON, R. P., SHAFIANI, S. e URDAHL, K. B. Foxp3⁺ regulatory T cells in tuberculosis. **Adv Exp Med Biol**, v.783, p. 165-180. 2013.
- LEE, E. e HOLZMAN, R. S. Evolution and current use of the tuberculin test. **Clin Infect Dis**, v.34, n.3, Feb, p. 365-370. 2002.
- LEWINSOHN, D. A., GENNARO, M. L., SCHOLVINCK, L. e LEWINSOHN, D. M. Tuberculosis immunology in children: diagnostic and therapeutic challenges and opportunities. **Int J Tuberc Lung Dis**, v.8, n.5, May, p. 658-674. 2004.
- LI, L., SAD, S., KAGI, D. e MOSMANN, T. R. CD8Tc1 and Tc2 cells secrete distinct cytokine patterns in vitro and in vivo but induce similar inflammatory reactions. **J Immunol**, v.158, n.9, May, p. 4152-4161. 1997.
- LUCAS, S. B. Histopathology. In: Davies PDO, ed. Clinical tuberculosis. Chapman & Hall, London. 1998. p. 113-127.
- LURIE M. B. Resistance of Tuberculosis: Experimental studies in native and acquired defensive mechanism. Cambridge: Harvard University Press, 1964.
- MACIEL, E. L. N. **Avaliação do diagnóstico da tuberculose na infância** [Tese de Doutorado]. Rio de Janeiro: Instituto de Medicina Social, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2004.

MARAIS, B. J., GIE, R. P., SCHAAF, H. S., BEYERS, N., DONALD, P. R. e STARKE, J. R. Childhood pulmonary tuberculosis: old wisdom and new challenges. **Am J Respir Crit Care Med**, v.173, n.10, May, p. 1078-1090. 2006.

MARCONDES, E., VAZ, F. A., RAMOS, J. L. e OKAY, Y. (Edts). Pediatria Básica. Editora: Sarvier, São Paulo. 2003.

MATHEMA, B., KUREPINA, N. E., BIFANI, P. J. e KREISWIRTH, B. N. Molecular epidemiology of tuberculosis: current insights. **Clin Microbiol Rev**, v.19, n.4, Oct, p. 658-685. 2006.

MENZIES, D., PAI, M. e COMSTOCK, G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. **Ann Intern Med**, v.146, n.5, Mar, p. 340-354. 2007.

METCALFE, J. Z., EVERETT, C. K., STEINGART, K. R., CATTAMANCHI, A., HUANG, L., HOPEWELL, P. C. e PAI, M. Interferon- γ release assays for active pulmonary tuberculosis diagnosis in adults in low- and middle-income countries: systematic review and meta-analysis. **J Infect Dis**, v.204 Suppl 4, Nov, p. S1120–S1129. 2011.

MIGLIORI, G. B., BORGHESI, A., ROSSANIGO, P., ADRIKO, C., NERI, M., SANTINI, S., BARTOLONI, A., PARADISI, F. e ACOCELLA, G. Proposal of an improved scores method for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in childhood in developing countries. **Tuber Lung Dis**, v.73, n.3, Jun, p. 145-149. 1992.

MOHAN, A. K., COTÉ, T. R., BLOCK, J. A., MANADAN, A. M., SIEGEL, J. N. e BRAUN, M. M. Tuberculosis following the use of etanercept, a tumor necrosis factor inhibitor. **Clin Infect Dis**, v.39, n.3, Aug, p. 295-299. 2004.

MOON H. W. e HUR, M. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an updated review. **Ann Clin Lab Sci**, v.43, n.2. p. 221-229. 2013.

MORI, T., SAKATANI, M., YAMAGISHI, F., TAKASHIMA, T., KAWABE, Y., NAGAO, K., SHIGETO, E., HARADA, N., MITARAI, S., OKADA, M., SUZUKI, K., INOUE, Y., TSUYUGUCHI, K., SASAKI, Y. e MAZUREK, G. H., TSUYUGUCHI, I. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. **Am J Respir Crit Care Med**, v.170, n.1, Jul, p. 59-64. 2004.

NAIR, P. H. e PHILIP, E. A scoring system for the diagnosis of tuberculosis in children. **Indian Pediatr**, v.18, n.5, May, p. 299-303. 1981.

NAKAOKA, H., LAWSON, L., SQUIRE, S. B., COULTER, B., RAVN, P., BROCK, I., HART, C. A. e CUEVAS, L. E. Risk for tuberculosis among children. **Emerg Infect Dis.** v.12, n.9, Sep, p. 1383-1388. 2006.

NARDELL, E., MCINNIS, B., THOMAS, B. e WEIDHAAS, S. Exogenous reinfection with tuberculosis in a shelter for the homeless. **N Engl J Med**, v.315, N.25, Dec, p. 1570-1575. 1986.

NEWPORT, M. J., HUXLEY, C. M., HUSTON, S., HAWRYLOWICZ, C. M., OOSTRA, B. A., WILLIAMSON, R. e LEVIN, M. A mutation in the interferon-gamma-receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. **N Engl J Med**, v.335, n.26, Dec, p. 1941-1949. 1996.

NEYROLLES, O., HERNANDEZ-PANDO, R., PIETRI-ROUXEL, F., FORNÈS, P., TAILLEUX, L., BARRIOS PAYÁN, J. A., PIVERT, E., BORDAT, Y., AGUILAR, D., PRÉVOST, M. C., PETIT, C. e GICQUEL, B. Is adipose tissue a place for Mycobacterium tuberculosis persistence? **PLoS One**, v.1, Dec, p. e43. 2006.

OKADA, K., MAO, T. E., MORI, T., MIURA, T., SUGIYAMA, T., YOSHIYAMA, T., MITARAI, S., ONOZAKI, I., HARADA, N., SAINT, S., KONG, K. S. e CHHOUR, Y. M. Performance of an interferon-gamma release assay for diagnosing latent tuberculosis infection in children. **Epidemiol Infect.** v.136, n.9, Sep, p. 1179-1187. 2008.

ONUR, H., HATIPOĞLU, S., ARICA, V., HATIPOĞLU, N. e ARICA, S. G. Comparison of quantiferon test with tuberculin skin test for the detection of tuberculosis infection in children. **Inflammation**, v.35, n.4, Aug, p. 1518-1524. 2012.

PAI, M., DENKINGER, C. M., KIK, S. V., RANGAKA, M. X., ZWERLING, A., OXLADE, O., METCALFE, J. Z., CATTAMANCHI, A., DOWDY, D. W., DHEDA, K. e BANAEI, N. Gamma Interferon Release Assays for Detection of Mycobacterium tuberculosis Infection. **Clin Microbiol Rev**, v.27, n.1, Jan, p. 3-20. 2014.

PAI, M., ZWERLING, A. e MENZIES, D. Systematic review: T-cell based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. **Ann Intern Med**, v.149, n.3, Aug, p. 177-184. 2008.

PEARCE, E. C., WOODWARD, J. F., NYANDIKO, W. M., VREEMAN, R. C. e AYAYA, S. O. A systematic review of clinical diagnostic systems used in the diagnosis of tuberculosis in children. **AIDS Res Treat**, v.2012, Jul, 11p. 2012.

PÉREZ-PORCUNA, T. M., ASCASO, C., MALHEIRO, A., ABELLANA, R., MARTINS,

- M., SARDINHA, J. F., QUINCÓ, P., ANTUNES, I. A., DA SILVA GARRIDO, M., BÜHRER-SÉKULA, S. e MARTINEZ-ESPINOSA, F. E. Mycobacterium tuberculosis infection in young children: analyzing the performance of the diagnostic tests. **PLoS One**. v. 30, n.5, May. 2014.
- PEREZ-VELEZ, C. M. e MARAIS, B. J. Tuberculosis in children. **N Engl J Med**, v.367, n.4, Jul, p. 348-361. 2012.
- POTTUMARTHY, S., MORRIS A. J., HARRISON, A. C. e WELLS, V. C. Evaluation of the tuberculin γ interferon assay: potential to replace the Mantoux skin test. **J Clin Microbiol**, v.37, n.10, Oct, p. 3229-3232. 1999.
- ROSEMBERG, J. Tuberculose - Aspectos históricos, realidades, seu romantismo e transculturação. **Bol. Pneumol. Sanit**, Rio de Janeiro, v.7, n.2, Dez. 1999.
- ROSSONI, A. M. O., ROSSONI, M. D. e RODRIGUES, C. O. Critérios de Pontuação para Diagnóstico de Tuberculose em Crianças. **Pulmão RJ**, v.22, n.3, p. 65-69. 2013.
- RUSSELL, D. G. Who puts the tubercle in tuberculosis? **Nat Rev Microbiol**, v.5, n.1, p. 39-47. 2007.
- RUTHERFORD, M. E., NATAPRAWIRA, M., YULITA, I., APRIANI, L., MAHARANI, W., VAN CREVEL, R., HILL, P. C. e 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**. v.16, n.4, Apr, p. 496-502. 2012.
- SANT'ANNA, C. C. e HIJJAR, M. A. Recente contribuição da Organização Mundial de Saúde para o controle da Tuberculose na Infância. **Rev Saúde Pública**, v.41: Suppl 1, p. 117-120. 2007.
- SANT'ANNA, C. C., MOURGUES, L. V., FERRERO, F. e BALANZAT, A. M. Diagnóstico e Terapêutica da Tuberculose Infantil – uma visão atualizada de um antigo problema. **Jornal de Pediatria**, v.78 Suppl 2, p. 205-214. 2002.
- SANT'ANNA, C. C., ORFALIAS, C. T. e MARCH, M. de F. A retrospective evaluation of a score system adopted by the Ministry of Health, Brazil, in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in childhood: a case control study. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v.45, n.2, Mar-Apr, p. 103-105. 2003.
- SANT'ANNA, C. C., SANTOS, M. A. e FRANCO, R. Diagnosis of pulmonary tuberculosis by score system in children and adolescents: a trial in a reference center in Bahia, Brazil. **Braz J Infect Dis**, v.8, n.4, Aug, p. 305-310. 2004.

SCANGA, C. A., MOHAN, V. P., JOSEPH, H., YU, K., CHAN, J. e FLYNN, J. L. Reactivation of latent tuberculosis: variations on the Cornell murine model. **Infect Immun**, v.67, n.9, p. 4531-4538. 1999.

SESTER, M., SOTGIU, G., LANGE, C., GIEHL, C., GIRARDI, E., MIGLIORI, G. B., BOSSINK, A., DHEDA, K., DIEL, R., DOMINGUEZ, J., LIPMAN, M., NEMETH, J., RAVN, P., WINKLER, S., HUITRIC, E., SANDGREN, A. e MANISSERO, D. Interferon- γ release assays for the diagnosis of active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. **Eur Respir J**, v.37, n.1, Jan, p. 100-111. 2011.

SHAH, M., KASAMBIRA, T. S., ADRIAN, P. V., MADHI, S. A., MARTINSON, N. A. e DORMAN, S. E. Longitudinal analysis of QuantiFERON-TB Gold In-Tube in children with adult household tuberculosis contact in South Africa: a prospective cohort study. **PLoS One**. v. 6, n.10, Oct. 2011.

SHAW, J. B. e WYNN-WILLIAMS, N. Infectivity of pulmonary tuberculosis in relation to sputum status. **Am Rev Tuberculosis**, v.69, n.5, May, p. 724-732. 1954.

SILVEIRA, H. Reações de tuberculina - Sua interpretação, seu valor no diagnóstico da tuberculose. **Revista de Medicina**, p. 29-52. 1941.

SOMU, N., SWAMINATHAN, S., PARAMASIVAN, C. N., VIJAYASEKARAN, D., CHANDRABHOOSHANAM, A., VIJAYAN, V. K. e PRABHAKAR, R. Value of bronchoalveolar lavage and gastric lavage in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children. **Tuber Lung Dis**, v.76, n.4, Aug, p. 295-299. 1995.

STARKE, J. R. e COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES. Interferon- γ release assays for diagnosis of tuberculosis infection and disease in children. **Pediatrics**, v.134, n.6, p. e1763-1773. 2014.

STARKE, J. R. Childhood tuberculosis. A diagnostic dilemma [editorial]. **Chest**, v.104; n.2, Aug, p.329-330. 1993.

STEAD, W. W. e LOFGREN, J. P. Does the risk of tuberculosis increase with old age? **J Infect Dis**, v.147, n.5, May, p. 951-955. 1983.

STEGEN, G., JONES, K. e KAPLAN, P. Criteria for guidance in the diagnosis of tuberculosis. **Pediatrics**, v.43, n.2, Feb, p. 260-263. 1969.

STENGER, S., HANSON, D. A., TEITELBAUM, R., DEWAN, P., NIAZI, K. R., FROELICH, C. J., GANZ, T., THOMA-USZYNSKI, S., MELIÁN, A., BOGDAN, C., PORCELLI, S. A., BLOOM, B. R., KRENSKY, A. M. e MODLIN, R. L. An

antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. **Science**, v.282, n.5386, Oct, p. 121-125. 1988.

SUCCI, R. C. M. Reação tuberculínica. In: Fundamentos e prática das imunizações em clínica médica pediatria. Rio de Janeiro: Atheneu, 1987. p. 75-105.

SULTAN, L., NYKA, W., MILLS, C., O'GRADY, F., WELLS, W. e RILEY, R. L. Tuberculosis disseminators. A study of variability of aerial infectivity of tuberculosis patients. **Am Rev Respir Dis**, v.82, Sep, p. 358-369. 1960.

SZTAJNBOK, F. R., BOECHAT, N. L., SZTAJNBOK, D. C., RIBEIRO, S. B., OLIVEIRA, S. K. e SANT'ANNA, C. C. The challenge of pediatric tuberculosis in face of new diagnostic techniques. **J Pediatr (Rio J)**, v.85, n.3, May-Jun, p. 183-193. 2009.

TARANTINO, A. B. e LEITÃO DE OLIVEIRA, M. C. Tuberculose. **Arq Bras Med**, v.64, p. 123-131. 1990.

TEIXEIRA, H. C., ABRAMO, C. e MUNK, M. E. Diagnóstico imunológico da tuberculose: problemas e estratégias para o sucesso. **J Bras Pneumol**, v.33, n.3, p. 323-334, 2007.

THOMAS, B., PUGALENTI, A., PATEL, H., WOLTMANN, G., BANKART, J. e HOSKYNS, W. Concordance between tuberculin skin test and interferon- γ assay and interferon- γ response to mitogen in pediatric tuberculosis contacts. **Pediatr Pulmonol**. v. 46, n.12, Dec, p. 1225-1232. 2011.

TIDJANI, O., AMEDOME, A. e TEN DAM, H. G. The protective effect of BCG vaccination of the newborn against childhood tuberculosis in Africa community. **Tubercle**, v.67, n.4, Dec, p. 269-281. 1986.

TIEU, H. V., SUNTARATTIWONG, P., PUTHANAKIT, T., CHOTPITAYASUNONDH, T., CHOKEPHAIBULKIT, K., SIRIVICHAYAKUL, S., BURANAPRADITKUN, S., RUNGROJRAT, P., CHOMCHEY, N., TSIOURIS, S., HAMMER, S., NANDI, V., ANANWORANICH, J. e THAI TB PX STUDY GROUP. Comparing interferon-gamma release assays to tuberculin skin test in Thai children with tuberculosis exposure. **PLoS One**, v.9, n.5, Aug. 2014.

TUBACH, F., SALMON, D., RAVAUD, P., ALLANORE, Y., GOUPILLE, P., BRÉBAN, M., PALLOT-PRADES, B., POUPLIN, S., SACCHI, A., CHICHEMANIAN, R. M., BRETAGNE, S., EMILIE, D., LEMANN, M., LORTHOLARY, O., MARIETTE, X. e RESEARCH AXED ON TOLERANCE OF BIOTHERAPIES GROUP. Risk of tuberculosis is higher with anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody therapy

than with soluble tumor necrosis factor receptor therapy: the three-year prospective French Research Axed on Tolerance of Biotherapies registry. **Arthritis Rheum**, v.60, n.7, Jul, p. 1884-1894. 2009.

VERHAGEN, L. M., MAES, M., VILLALBA, J. A., D'ALESSANDRO, A., RODRIGUEZ, L. P., ESPAÑA, M. F., HERMANS, P. W. e DE WAARD, J. H. Agreement between QuantiFERON®-TB Gold In-Tube and the tuberculin skin test and predictors of positive test results in Warao Amerindian pediatric tuberculosis contacts. **BMC Infect Dis**. v.14, Jul. 2014.

VIERA, A. J. e GARRETT, J. M. Understanding Interobserver Agreement: The Kappa Statistic. **Fam Med**, v.37, n.5, p. 360-363. 2005.

WALLIS, R. S., BRODER, M., WONG, J. e BEENHOUWER, D. Granulomatous infections due to tumor necrosis factor blockade: correction. **Clin Infect Dis**, v.39, n.8, Oct, p. 1254-1255. 2004.

WALLIS, R. S., BRODER, M., WONG, J., LEE, A. e HOQ, L. Reactivation of latent granulomatous infections by infliximab. **Clin Infect Dis**, v.41 Suppl 3, Aug, p. S194-198. 2005.

WAYNE, L. G. e KUBICA, G. P. Genus Mycobacteria. In: Sneath, P. H. A.; Mair, N. S.; Sharp, M. E.; Holt, J. E. (Eds). Bergey's Manual of Sytematic Bacteriology. Wilkins, Williams & Baltimore. 1986. p.1436-1457.

WELLS, W. Experimental airborne disease: Quantitative natural respiratory contagion of tuberculosis. **Am J Hyg**, v.234(b), p. 21-24. 1941.

WELLS, W. Airborne Contagion and Air Hygiene. Harvard University Press, Cambridge, MA, 1955.

WHO. **Global Tuberculosis Report 2012**. Geneva, 2012. Disponível em: <http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/>. Acesso em: 10 de Maio de 2014.

WHO. **Multicentre Growth Reference Study Group**. WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: Methods and development. Geneva: World Health Organization, 2006.

WHO. **Roadmap for childhood tuberculosis**: towards zero death. 2013. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/89506/1/9789241506137_eng.pdf>. Acesso em: 15 de Outubro de 2014.

WHO. **The End TB Strategy**. Geneva, 2015. Disponível em: <http://www.who.int/tb/EndTBadvocacy_brochure/en/>. Acesso em: 20 de Abril de 2015.

Anexos



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Vitória-ES, 27 de junho de 2007

Do: Prof. Dr. Fausto Edmundo Lima Pereira
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde

Para: Prof. Dr. Reynaldo Dietze
Pesquisador Responsável pelo Projeto de Pesquisa intitulado: **“Colaboração EUA-Brasil em Pesquisa sobre variação de Cepas de TB – Protocolo No. DMID 06-0075 – Versão 2.0 de 05 de abril de 2007”**.

Senhor Pesquisador,

Informamos à V.Sa., que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, após analisar o Protocolo de Pesquisa, No. de Registro no CEP-050/07, intitulado: **“Colaboração EUA-Brasil em Pesquisa sobre variação de Cepas de TB – Protocolo No. DMID 06-0075 – Versão 2.0 de 05 de abril de 2007”** e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Versão 2.0 de 01/03/07; Aceitação de Participação em Pesquisa (para crianças de 7 a 17 anos Versão 2.0 de 01/03/07; Consentimento para Participação em Pesquisa Caso Índice de TB – Versão 2.0 de 01/03/07; Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Participação em Pesquisa, Contado Domiciliar – Versão 2.0 de 01/03/07; cumprindo os procedimentos internos desta Instituição, bem como as exigências das Resoluções 196 de 10.10.96, 251 de 07.08.97 e 292 de 08.07.99, **APROVOU** o referido projeto, em Reunião Ordinária realizada em 27 de junho de 2007. Lembramos à Vossa Senhoria, que por se tratar de pesquisa com colaboração estrangeira, é necessário aguardar o parecer da CONEP para início da pesquisa.

Gostaríamos de lembrar que cabe ao pesquisador elaborar e apresentar os relatórios parciais e finais de acordo com a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196 de 10/10/96, inciso IX.2. letra “c”.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Fausto Edmundo Lima Pereira
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa
Centro Biomédico/UFES

ANEXO B

DE: CONASS

FAX: 6133152894

10 OUT 2007 14:05 Pág. 3



MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

PARECER Nº 764/2007

Registro CONEP: 14151 (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

Registro no CEP: 050/07

Processo nº 25000.123187/2007-24

Projeto de Pesquisa: Colaboração EUA-Brasil em Pesquisa sobre Variação de Cepas de TB". Número do Protocolo da DMID: 06 0075 Esboço ou Versão Número: 2.0 de 05/04/2007. Termos de Consentimento Livre e Esclarecido de 01/03/2007

Pesquisador Responsável: Dr. Reynaldo Dietze

Instituição: Núcleo de Doenças Infecciosas (NDI) – Centro de Ciências da Saúde

CEP de origem: Universidade Federal do Espírito Santo

Área Temática Especial: Cooperação estrangeira

Patrocinador: NIH/NIAD/DMID USA

Sumário geral do protocolo:

Trata-se de estudo observacional com os seguintes objetivos: 1) Determinar se algumas cepas clínicas de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) são mais transmissíveis ou se são associadas à maior progressão da doença em pacientes infectados, enquanto outras cepas tem o fenótipo oposto. 2) Determinar se as cepas identificadas no objetivo 1 variam na forma em que interagem com o sistema imunológico inato o grau em que as diferenças do hospedeiro influenciam essa interação. 3) Determinar o grau em que a imunidade adaptativa à MTB é específica da cepa, e descobrir as cepas principais ou fatores bacterianos que precisariam ser combinados em uma futura vacina para induzir uma resposta imunológica adaptativa efetiva contra todas as cepas de MTB.

A hipótese deste projeto é que a produção genética de cepas de MTB é um importante determinante da extensão da transmissão de MTB, da instalação de infecção, do risco de progressão de infecção para doença e de se uma infecção micobacteriana anterior confere proteção contra a infecção por MTB. O entendimento da relação entre fatores específicos das cepas e os elementos de imunidade do hospedeiro que conferem proteção contra infecção por MTB e progressão da doença será essencial para se desenvolver uma vacina que confira proteção mais ampla do que o BCG. Se for comprovada, a hipótese da proposta mudaria o paradigma de desenvolvimento de vacinas. Para ser amplamente eficaz, a cepa de vacina precisaria conferir imunidade que protegesse contra todas as cepas predominantes de MTB.

Para o recrutamento, o estudo utilizará a rede de clínicas do Núcleo de Doenças Infecciosas da Universidade Federal do Espírito Santo-NDI para identificar, obter o consentimento e cadastrar todos os sujeitos participantes deste estudo. Todos os casos de TB (Tuberculose) e seus co-habitantes correspondentes, que se apresentarem às cinco clínicas do NDI serão considerados para participação no estudo. Os critérios de elegibilidade para o estudo serão baseados em informações de saúde colhidas pelo Programa de Tratamento de TB de Vitória, como parte da rotina de atendimento à TB oferecido a todos os novos casos de TB e seus contatos domiciliares correspondentes. Pretende-se incluir 4500 participantes, no total.

Os critérios de inclusão são: idade ≥ 18 anos; esfregaço para baciloscopia de escarro $\geq 1+$; nenhum histórico anterior de TB (nova TB). HIV-negativo; ter 3 ou mais

contatos domiciliares, todos >3 semanas. Antes de serem incluídos no estudo, os possíveis participantes assinarão uma autorização para triagem. Após incluídos no estudo, tendo assinado o TCLE, os familiares do participante serão também consultados quanto a sua possível participação e, caso consentam, também serão incluídos, inclusive as crianças de 7 a 17 anos com um TCLE próprio para menores, além do TCLE para os responsáveis.

O Programa de TB de Vitória assumirá a responsabilidade pelo início e acompanhamento do tratamento de todos os participantes do estudo, incluindo tratamento de TB, tratamento de infecção tuberculosa latente (LTBI) e terapia antiretroviral HIV quando indicada, de acordo com as normas brasileiras de tratamento correspondentes.

Os critérios de exclusão são: HIV soropositivo ou recusa em submeter-se ao teste de HIV na triagem; Caso Índice de TB somente; Histórico anterior de tratamento de TB; Casos de TB com histórico de não adesão ao tratamento determinado pelo Programa de TB de Vitória; Incapacidade de fornecer/ preencher exames ou procedimentos do estudo na triagem e na linha de base.

O pessoal de saúde do Programa de TB faz um exame físico, histórico médico e questionário clínico limitado na ocasião em que é identificado um caso novo de TB recentemente diagnosticado. Essa avaliação inclui as seguintes informações: 1. Informações demográficas básicas (idade, gênero, religião, residência); 2. Histórico médico (histórico de TB, co-morbidades, medicações); 3. Exame físico (peso, altura, sinais vitais, exame físico limitado); 4. Avaliação de TB (baciloscopia de escarro/cultura, raio X de tórax, teste HIV).

Após a identificação dos casos índice, será colhido sangue para os exames complementares (análise de citocinas (IFN- γ , IL-4, IL-10 e TGF- β) e análise de polimorfismos de genes em sua visita de Cadastro) e para o armazenamento, com finalidade de constituir banco genético. As amostras de sangue serão armazenadas no laboratório no Brasil. As PBMCs (células sanguíneas mononucleares periféricas) serão armazenadas em nitrogênio líquido e qualquer outro sangue coletado será armazenado em um freezer -70. Se o cônjuge ou parceiro doméstico do caso índice não for parente geneticamente próximo (primo em primeiro grau ou mais próximo), tiver TST (Teste Cutâneo de Tuberculina) positivo, não tiver sintomas de doença TB e autorizar a coleta de sangue, será solicitado a ele/ ela fornecer duas colheres de chá adicionais (10 ml) de sangue para armazenagem também. Também serão oferecidos questionários específicos da pesquisa, para resposta. Haverá ainda avaliação ambiental das moradias dos participantes.

Apresentação do protocolo

Haverá envio de colônias de TB para os EUA, para fins de análise à longo prazo. O envio de culturas de TB obedecerá os padrões internacionais de biossegurança de envio de amostras. Uma permissão será obtida junto às autoridades brasileiras competentes (Conselho Nacional de Pesquisa - CNPq), CDC e FDA antes do envio.

O cronograma do estudo é compatível com o seu desenho e prevê o período de tramitação para análise ética. O orçamento apresentado detalha os recursos para pagamento dos pesquisadores e de toda a equipe envolvida no estudo, bem como dos procedimentos laboratoriais, prevendo um total de R\$ 320.314,50 para exames e R\$ 1.231.200,00 para pagamento de pessoal.

Os riscos previsíveis aos participantes são baixos, relativos às picadas de agulha para coleta de sangue e aos demais exames radiográficos e de escarro. Entretanto, por se tratar de doença de grande incidência, os benefícios esperados de

Cont. Parecer CONEP 764/07

seu maior controle são compensadores e justificam a realização da pesquisa, tratando-se do objeto de grande interesse e relevância social.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE é apresentado em linguagem clara, contém todas as informações necessárias aos participantes e inclui um termo específico para menores em linguagem esclarecedora.

Recomendações:

1. O Termo de Consentimento para os casos índices apresenta como título "Consentimento para participação em pesquisa caso índice de TB". Pede-se colocar o título "Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para casos índices", conforme item IV da Resolução CNS 196/96. O mesmo deve ser observado no Termo para crianças de 7 a 17 anos, intitulado "Aceitação de Participação em Pesquisa".
2. Deve ser garantido o acesso aos resultados dos exames aos participantes, bem como aos resultados da pesquisa.
3. Deve ser declarado o compromisso de publicação dos resultados da pesquisa.

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto, devendo o CEP verificar o cumprimento da questão acima e encaminhar a CONEP antes do início do estudo.

Situação: Protocolo aprovado com recomendação.

Brasília, 02 de outubro de 2007.

Gyselle Saddi Tannous
Coordenadora da CONEP/CNS/MS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO BIOMÉDICO
NÚCLEO DE DOENÇAS INFECCIOSAS



NEW JERSEY
MEDICAL SCHOOL

University of Medicine & Dentistry of New Jersey

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(para crianças de 7 a 17 anos)**

TÍTULO DO ESTUDO: Colaboração EUA - Brasil em Pesquisa sobre Variação de Cepas em Tuberculose

Patrocinador: Divisão de Microbiologia e Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Alergia e Doença Infecciosa, Institutos Nacionais de Saúde (Estados Unidos)

Nome do Voluntário: _____

Quem somos nós e por que estamos nos reunindo com você?

Meu nome é _____. Eu trabalho para o Programa de Pesquisa [do Núcleo de Doenças Infecciosas \(NDI\)](#) da UFES. Estou aqui hoje para lhe perguntar se deseja participar de um estudo.

Sobre o que é esse estudo?

Algumas pessoas ficam doentes com uma doença chamada Tuberculose (TB). Isto aconteceu com alguém de sua família. As pessoas com TB recebem medicação para tratar a doença. Estamos realizando este estudo para entender melhor como a TB passa para outras pessoas na mesma casa. Espera-se que o que for aprendido com esse estudo venha ajudar médicos e cientistas a entender como impedir que as pessoas peguem TB no futuro.

Como funciona o estudo?

Se você concordar, faremos algumas perguntas a você e a seus pais sobre sua saúde no passado e sobre como você está se sentindo agora. Se o teste de pele que foi colocado em seu braço sugere que você não pegou a bactéria que causa a tuberculose, nós vamos usar uma agulha para coletar 4 colheres de sopa (20ml) de seu sangue se você tiver entre 13 e 17 anos ou duas colheres de chá (10ml) se você tiver menos que 12 anos.

Nós vamos então retornar após um mês e meio, e retirar mais 4.5 colheres de chá (23ml) de seu sangue se você tiver 13-17 anos de idade, ou cerca de 3 colheres (13 ml) se você está entre 7 e 12. Este sangue será coletado independente do resultado do seu teste de pele.

Por último, se o seu teste de pele sugere que você pegou a bactéria que causa a tuberculose, mas os exames de sangue indicam que você não pegou, em 4 meses vamos voltar pela última vez, e coletar mais duas colheres de chá (10ml) de seu sangue.

Pode me acontecer alguma coisa ruim?

Pode doer um pouco quando a agulha entrar para colher o sangue.

Vai me acontecer alguma coisa boa?

Achamos que você e sua família ficarão satisfeitos porque você vai receber uma avaliação mais cuidadosa de sua saúde. Você e os outros membros da sua família serão chamados para tomar o medicamento se você precisar dele para evitar ficar doente com TB. Também aprenderemos muito com você e sua família e isto pode ajudar outras famílias no futuro, tanto no Brasil como no resto do mundo.

Tenho que fazer isto?

Não. Você não tem que participar deste estudo se não quiser. Ninguém ficará zangado com você se você não quiser fazer isto. Você também pode dizer que “sim” e depois mudar de idéia e dizer que “não”.

Vou receber alguma coisa se fizer isto?

Não temos nada para lhe dar nem a seus pais se você concordar em participar deste estudo. Se você estiver doente, tentaremos obter a ajuda de que você precisa para fazê-lo se sentir melhor.

Quais são os meus direitos?

Você tem o direito de fazer as perguntas que quiser. Você somente deve dizer “sim” se entender do que se trata. A forma de dizer “sim” é colocar o seu nome e a data de hoje neste papel. Caso você decida participar do estudo, você terá acesso garantido a todos os resultados de exames, bem como os resultados da pesquisa quando estes estiverem disponíveis.

Assinatura do Sujeito:

Entendo o que o assistente de pesquisa acabou de me dizer, ele ou ela respondeu a todas as minhas perguntas, e concordo em participar desta pesquisa.

Sujeito

Assinatura (ou impressão digital)

Nome do Sujeito (legível)

Data

Assinatura do Investigador ou Pessoa Responsável:

Expliquei os objetivos deste estudo ao voluntário. Tenho plena convicção de que ele/ ela entendeu os objetivos, riscos e benefícios de sua participação no estudo.

Assinatura do Investigador
ou seu representante

Nome do Investigador
ou seu representante (legível)

Data



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO
CENTRO BIOMÉDICO
NÚCLEO DE DOENÇAS INFECCIOSAS**



**NEW JERSEY
MEDICAL SCHOOL**

University of Medicine & Dentistry of New Jersey

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO A SER ASSINADO PELO
RESPONSÁVEL DO CONTATO DOMICILIAR MENOR DE 18 ANOS**

TÍTULO DO ESTUDO: Colaboração EUA - Brasil em Pesquisa sobre Variação de Cepas em Tuberculose

Patrocinador: Divisão de Microbiologia e Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Alergia e Doença Infecciosa, Institutos Nacionais de Saúde (Estados Unidos)

Nome da Criança: _____

Introdução

Sua criança foi convidada a participar de uma pesquisa. Os doutores responsáveis pelo estudo são o Dr. Reynaldo Dietze no Brasil e o Dr. David Alland nos Estados Unidos.

Este é um formulário de consentimento. Vai lhe falar sobre o estudo e lhe dar as informações de que você precisa para decidir se gostaria ou não da participação de sua criança. É sua a escolha se sua criança vai participar do estudo ou não. Se você concordar que ele/ela participe, será convidado a assinar este formulário. Você receberá uma cópia do mesmo para guardar.

Sua criança está sendo convidada a participar deste estudo porque mora com alguém que tem tuberculose pulmonar (TB). A Tuberculose é uma doença causada por uma bactéria chamada *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) que pode afetar os pulmões ou outras partes do corpo. Cerca de 4.500 pessoas participarão do estudo.

Por que este estudo está sendo feito?

As bactérias MTB não são iguais. Sabe-se que o tipo de MTB que uma pessoa tem pode ser ligeiramente diferente do tipo que outra pessoa tem. Diferentes tipos de uma bactéria como a MTB são conhecidos como “cepas”. Este estudo está sendo feito para entender se essas diferenças de cepas fazem com que algumas pessoas passem a doença mais facilmente a outras e se essas diferenças também podem fazer com que algumas pessoas fiquem mais doentes do que outras. Espera-se que um melhor entendimento desse assunto irá ajudar cientistas a desenvolver eventualmente uma vacina eficaz contra a TB.

Como funciona o estudo?

O objetivo do estudo é entender se a cepa de MTB que o membro de sua família tem, influencia no quanto ele ficou doente, e qual a probabilidade do MTB ter passado para outras pessoas da família.

É importante para todos que moram com alguém que tem TB fazer o teste de infecção para TB. O programa de TB do seu município geralmente faz testes de

infecção em todos os membros das famílias dos pacientes através de um teste conhecido como teste cutâneo de tuberculina (TST). Isto é feito para todas as pessoas que moram com pacientes de TB, participem elas de pesquisas ou não. Se este teste mostrar que a sua criança está infectada com MTB, ele/ela será avaliada e possivelmente lhe será oferecida medicação para impedir que fique doente. Se o TST de seu filho/a for "negativo" a primeira vez que ele/ela for avaliado, ele/ela vai precisar de um segundo TST cerca de 8 semanas após o primeiro para se certificar de que ele/ela não está infectado com MTB.

O programa de TB da Região Metropolitana da Grande Vitória rotineiramente recolhe informações sobre os membros da família dos pacientes com tuberculose. Nome, data de nascimento e nome da mãe são coletados. Se seu filho ficar doente com tuberculose ao longo dos próximos anos, os pesquisadores serão capazes de ligar as amostras da sua cepa de MTB e utilizar estas informações para o membro da família que agora tem a tuberculose para ver se ambos estão infectados com a mesma cepa.

O programa de TB de Vitória também coleta informações sobre os contatos, como o número de pessoas que vivem na casa, idade, sexo, se eles receberam a vacina BCG, como eles estão relacionados com a pessoa com tuberculose, e se eles mostram sinais de infecção pelo MTB. Esta informação será armazenada em um banco de dados. Estas informações só serão usadas depois de todos os nomes serem removidos para pesquisas futuras.

Se você decidir que sua criança fará parte do estudo, este envolverá avaliações adicionais de sua casa e testes adicionais para infecção de MTB na 3^a, 8^a, 10^a e possivelmente na 16^a semana de estudo.

O que vão me pedir para fazer?

Se você concordar que sua criança participe do estudo, vão lhe pedir para assinar este formulário de consentimento. Se a sua criança possui idade entre 7 e 17 anos, também será pedido para ele/ela assinar um formulário especial denominado "Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para crianças entre 7 a 17 anos" que é usado para crianças entre 7 e 17 anos de idade darem sua permissão para participarem do estudo. Quando os formulários de consentimento e aceitação tiverem sido assinados, um assistente de pesquisa irá:

- Fazer perguntas específicas sobre a saúde de sua criança no passado e sobre como ele/ela está se sentindo agora. Se ele/ela estiver doente, será encaminhado(a) ao programa de TB do seu município para receber cuidados.
- Verificar se há no braço dele/dela uma cicatriz de vacina BCG tomada no passado.
- Recolher informação e visitar a sua casa para saber quantas pessoas vivem lá e quantos quartos você tem. Estes e outros fatores também desempenham um papel importante em como provavelmente ocorre a disseminação da TB de uma pessoa para a outra.
- Coletar sangue de seu filho para confirmar se ele/ela está infectado com MTB e estudar a resposta do seu corpo ao MTB. Se o TST inicial do seu filho for negativo, a seguinte quantidade de sangue será coletado na visita da 3^a semana:
 - Adolescentes entre 13-17 anos: (1,5 colheres de sopa ou 20 ml)
 - Crianças de 5-12 anos: (2 colheres de chá ou 10ml)
 - Bebês ou com idade inferior a 5 anos: (1 colher de chá ou 5 mL)
- Coletar sangue novamente na 8^a a 10^a semana, independente do resultado de TST do seu filho. A quantidade coletada será estabelecida da seguinte forma:
 - Adolescentes entre 13-17 anos: (4,5 colheres de chá ou 23 mL)

- Crianças de 5-12 anos: (2,5 colheres de chá ou 13ml)
- Bebês com menos de 5 anos: (1,5 colher de chá ou 8 ml)
- Finalmente, se o status de infecção do seu filho ainda for incerto depois de todos os testes na semana 8 a 10 estarem completos (o exame TST é positivo, mas o exame de sangue é negativo), a seguinte quantidade de sangue será coletada novamente do seu filho:
 - Crianças de 5-17 anos: (2 colheres de chá ou 10 mL)
 - Bebês menores de 5 anos: (1 colher de chá ou 5 mL)

Quem pode participar do estudo? Quem não pode?

Para sua criança participar do estudo, ele/ela tem que estar morando com o membro da família que tem TB há três meses ou mais.

Quanto tempo vai durar o envolvimento dele/dela com o estudo?

A participação dele/dela no estudo pode durar até quatro meses, no entanto, espera-se que a maioria dos participantes terminem após cerca de dois meses.

Existem riscos?

O único procedimento do estudo que pode causar dano físico é a coleta de sangue. Os riscos para sua criança de ter o sangue colhido são dor, hematoma, sangramento e infecção onde a agulha entra, e às vezes desmaio.

Existem benefícios?

Espera-se que a criança e sua família se beneficiem porque vocês irão receber uma avaliação mais detalhada de sua saúde.

Também é esperado que o que for aprendido com este estudo irá ajudar a impedir a disseminação de TB no futuro no Brasil e no resto do mundo.

Quais são os meus direitos?

Há algum custo para participar do estudo? Vou ser pago?

Não há nenhum custo para você nem para a sua família para participar do estudo. Você e sua criança não serão pagos para participar do estudo.

Quais são as minhas outras escolhas?

A alternativa a participar deste estudo é simplesmente fazer o teste de infecção por TB da maneira convencional através do programa de TB do seu município. Se você precisar de medicação, esta lhe será oferecida seja você participante do estudo ou não.

E quanto a confidencialidade?

A equipe do estudo fará tudo que puder para proteger a privacidade de sua criança. Se ele/ela entrar no estudo, ele/ela receberá números de código. Esses números de código serão usados ao invés de seu nome para etiquetar as amostras e qualquer informação que for coletada sobre ele/ela. Manteremos uma ligação de identidade com o número de código do estudo. Esta ligação só será conhecida pela equipe do estudo e não será revelada, a menos que seja exigido por lei. Ela será destruída dois anos depois do estudo ser completado, por volta de Junho de 2013. Quando este estudo se tornar público, nem sua criança nem os membros de sua família serão identificados por nome.

Além da equipe do estudo e dos médicos, é preciso permitir que pessoas dos seguintes lugares vejam os registros de sua criança:

- Universidade Federal do Espírito Santo,
- Universidade de Medicina e Odontologia de New Jersey,
- Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e Comissão de Ética em Pesquisa do Centro Biomédico.
- Divisão de Microbiologia e Doenças Infecciosas dos Institutos Nacionais de Saúde dos Estados Unidos.
- Agência de Proteção à Pesquisa Humana dos Estados Unidos.

É sua a escolha da participação de sua criança neste estudo ou não. Você pode retirá-la do estudo no momento em que quiser. Sua criança receberá os mesmos cuidados, seja qual for a sua escolha. Caso decida participar do estudo, você terá acesso garantido a todos os resultados de exames, bem como os resultados da pesquisa quando estes estiverem disponíveis.

Com quem posso entrar em contato se eu tiver perguntas?

Se você tiver perguntas sobre a participação de sua criança neste estudo, ou achar que ele/ela sofreu danos por causa deste estudo, você pode entrar em contato com:

Dr. Reynaldo Dietze
 Professor Associado de Medicina
 Núcleo de Doenças Infecciosas, Centro Biomédico, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES
 Av. Marechal Campos, Nº 1468. Vitória, ES
 Fone: 27-3335-7210 / 3335-7204 Fax: 27-3335-7206

OU

Dr. David Alland
 Chefe da Divisão de Doenças Infecciosas
 Professor de Medicina
 New Jersey Medical School – UMDNJ 185 South Orange Ave., MSB A920C, Newark, NJ 07103
 (Fone) 01-973-972-2179 (Fax) 01-973-972-0713

Se você tiver perguntas sobre os direitos de sua criança como voluntária do estudo, você pode entrar em contato com:

Dr^a. Ethel Leonor Noia Maciel
 Coordenadora da Comissão de Ética em Pesquisa, Centro Biomédico, Universidade Federal do Espírito Santo. Tel.: 3335-7211

Assinatura do Responsável:

Li este formulário inteiro, ou o mesmo me foi lido, e o entendi totalmente. Todas as minhas perguntas sobre este formulário ou esta pesquisa foram respondidas satisfatoriamente. Concordo que minha criança participe desta pesquisa.

Pai/Mãe ou Responsável:

 Assinatura (ou impressão digital) Nome do Responsável (legível) Data

Pai/ Mãe ou Responsável: (Marque “N/A” se o segundo responsável não estiver disponível)

 Assinatura (ou impressão digital) Nome do Responsável (legível) Data

Testemunha: (Exigida SOMENTE se o sujeito não souber ler)

Li este formulário inteiro para o sujeito. Acredito que ele/ela o entendeu totalmente.

 Assinatura da Testemunha Nome da Testemunha (legível) Data

Assinatura do Investigador ou Pessoa Responsável:

Expliquei os objetivos deste estudo ao voluntário. Tenho plena convicção de que ele/ ela entendeu os objetivos, riscos e benefícios de sua participação no estudo.

Assinatura do Investigador
ou seu representante

Nome do Investigador
ou seu representante (legível)

Data

ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS DE SANGUE E ESCARRO PARA USO EM PESQUISAS FUTURAS

Você está sendo solicitado a dar a sua permissão para o armazenamento e uso futuro do escarro e amostras de sangue de sua criança. Depois que o teste para a tuberculose for concluído em suas amostras, os médicos responsáveis pelo estudo gostariam de armazenar e congelar a amostra. Suas amostras serão armazenadas no Brasil ou enviadas para laboratórios nos Estados Unidos. Elas serão usadas para ajudar os médicos e cientistas a entender melhor a tuberculose e para desenvolver melhores maneiras de diagnosticar e tratar a tuberculose. Esta pesquisa é, ou será aprovada tanto pela Comissão de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro Biomédico da Universidade Federal do Espírito Santo e do Conselho de Revisão Institucional da Universidade de Medicina e Odontologia de Nova Jersey

Para proteger sua privacidade, as amostras serão identificadas somente com o seu número de código para o estudo. Seu nome não será usado.

Não há nenhum benefício direto para sua criança por permitir o armazenamento e uso futuro das suas amostras, mas espera-se que o desenvolvimento de melhores testes para tuberculose vai beneficiar outras pessoas afetadas pela doença. Não há nenhum risco adicional para você, além do possível risco a sua privacidade acima descrito.

Você pode fazer parte deste estudo, mas se recusar a permitir que suas amostras sejam armazenadas e utilizadas no futuro. Você também pode concordar, e depois mudar de idéia. Se você decidir mais tarde que você não deseja ter as amostras de sua criança armazenadas para uso futuro, você deve contatar a equipe do estudo para que eles saibam. Eles vão garantir que as amostras serão destruídas.

Você pode contactar qualquer uma das pessoas listadas acima se você tiver dúvidas sobre o armazenamento e uso futuro das amostras de escarro da sua criança.

Coloque suas iniciais de acordo com sua escolha:

_____ Eu concordo que o escarro e amostras de sangue da minha criança sejam armazenadas e utilizadas para possíveis pesquisas futuras sobre a tuberculose

OU

_____ Eu não concordo que escarro e amostras de sangue da minha criança sejam armazenadas e utilizadas para possíveis pesquisas futuras sobre a tuberculose

Responsável:

Assinatura (ou impressão digital)

Nome do Sujeito (legível)

Data

Responsável: (Marque N/A se o segundo responsável não estiver disponível para assinar)

Assinatura (ou impressão digital)

Nome do Sujeito (legível)

Data



336

COLABORAÇÃO EUA-BRASIL EM PESQUISA SOBRE VARIAÇÃO DE CEPAS EM TUBERCULOSE
CONTATO DOMICILIAR

Este formulário deve ser preenchido para cada membro da família, não obstante a idade (um formulário por contato). O objectivo deste questionário é descrever as características pessoais de cada membro da família e o nível de contato com o caso índice de TB.

IDNO:

 - -

Data da avaliação:

 / /
Dia Mês Ano

1. Este membro da família é considerado na lista de contatos da triagem?:

- Sim
 Não (**INFORMAR O COORDENADOR DO ESTUDO**)

2. Este contato da família conviveu no mínimo 3 meses ou mais com o caso índice?

- Sim
 Não (**INFORMAR O COORDENADOR DO ESTUDO**)

DADOS DEMOGRÁFICOS

3. Data de Nascimento:

 / /
Dia Mês Ano

4. Estado Civil:

- Nunca casou
 Casado/Morando junto
 Separado/Divorciado
 Viúvo
 Criança

5. Nível mais alto de escolaridade:

- Nenhum
 Alguma instrução (< 8 anos)
 Ensino Fundamental (8 anos)
 Ensino Médio (3 anos)
 Técnico (1-2 anos)
 Superior (4-6 anos)

6. Qual é sua principal atividade?:

- Desempregado/inativo
 Trabalhador eventual
 Estudante
 Não se aplica
 Aposentado
 Outro

 (Especificar)

7. Relação com o Caso Índice [Sondar]:

Biológica

- | | |
|--------------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> Cônjuge | <input type="checkbox"/> Sobrinha/Sobrinho |
| <input type="checkbox"/> Pai/Mãe | <input type="checkbox"/> Primo/Prima |
| <input type="checkbox"/> Filho/Filha | <input type="checkbox"/> Meio Irmão/Irmã |
| <input type="checkbox"/> Irmão/Irmã | <input type="checkbox"/> Membro da família da
madrasta/padrasto |
| <input type="checkbox"/> Avô/Avó | |
| <input type="checkbox"/> Neto/Neta | <input type="checkbox"/> Outro parente |
| <input type="checkbox"/> Tia/Tio | <input type="checkbox"/> Sem parentesco |

8. Qual é sua renda média mensal?

- <1 Salário mínimo
 1 a 3 Salários mínimos
 4 a 6 Salários mínimos
 >6 Salários mínimos
 Nenhum salário
 Não se aplica

		-				-		
--	--	---	--	--	--	---	--	--

HISTÓRIA ANTERIOR RELACIONADA A TB: (História conhecida relacionada a TB no contato da família ANTES do diagnóstico de TB no caso índice).

9. Você já foi diagnosticado com DOENÇA TB no passado?:

- Sim
- Não (Vá para a questão 12)
- Não sabe (Vá para a questão 12)

9a. Se for SIM, você tem um "cartão de Tratamento de TB" ou prontuário médico?

- Sim (se possível, adicione fotocópia)
- Não

9b. Você está em tratamento ou já foi tratado de TB?

- Sim
- Não

9c. Quando você começou a terapia de TB?

		/			/				
Dia			Mês			Ano			

10. Você já foi diagnosticado com INFECÇÃO TB no passado?

- Sim
- Não (Vá para a questão 13)
- Não sabe (Vá para a questão 13)

10a. Você possui algum registro diagnóstico de INFECÇÃO TB?

- Sim (Se possível adicione fotocópia)
- Não
- Não sabe

10b. Quando você foi diagnosticado com INFECÇÃO TB?

		/			/				
Dia			Mês			Ano			

10c. Você recebeu terapia preventiva de TB?

- Sim
- Não
- Não sabe

11. Você já conviveu com alguma(s) pessoas(s) conhecida(s) por ter TB, além do caso índice?

- Sim
- Não
- Não sabe

12. Você já esteve em contato com alguém que estava tossindo em um hospital ou outra instituição de saúde?

- Sim
- Não
- Não sabe

13. Você já esteve preso ou na cadeia?

- Sim
- Não

14. O sujeito possui um cartão de vacinação?

- Sim
- Não (Vá para a questão 17)

14a. Se for "Sim", o cartão indica vacinação com BCG anterior?

- Sim
- Não

15. A cicatriz de BCG está presente? (Examine o indivíduo.)

- Sim
- Não
- Incerta

16. O comunicante tem mais de uma cicatriz de BCG?

- Sim
- Não

16a. Se sim, ano da aplicação

--	--	--	--



336

IDNO:

		-				-		
--	--	---	--	--	--	---	--	--

EXPOSIÇÃO AO CASO ÍNDICE

17. Nos últimos 3 meses, quantos dias por mês você esteve em contato com o caso índice?

- <1 dia por mês
- Entre 1 a 6 dias por mês
- Entre 7 a 12 dias por mês
- Entre 13 a 18 dias por mês
- Mais de 18 dias por mês
- Não sabe

18. Nos últimos 3 meses, nos dias em que teve contato com o caso índice, quantas horas por dia você passou com o caso índice?

- <1 hora por dia
- Entre 1 a 6 horas por dia
- Entre 7 a 12 horas por dia
- Entre 13 a 18 horas por dia
- Mais de 18 horas por dia
- Não sabe

19. Quantas refeições você faz próximo ao caso índice?

- Nenhuma 1 2 3 ou mais

20. A que distância você dorme do caso índice?

- Mesmo cômodo, mesma cama
- Mesmo cômodo, cama diferente
- Mesma casa, cômodos diferentes
- Mesmo quintal, casas diferentes
- Outro (especificar)

--	--	--	--	--	--

21. Desde que o membro de sua família (caso índice) ficou doente, quanto tempo você gasta cuidando dele/dela?

- <1 hora por dia
- Entre 1 a 6 horas por dia
- Entre 7 a 12 horas por dia
- Entre 13 a 18 horas por dia
- Mais de 18 horas por dia
- Não sabe
- Não se aplica

22. A quanto tempo você convive com o caso índice?

		/		
Anos			Meses	

COMPORTAMENTO DE RISCO

23. Alguma vez fumou?

- Sim
- Não (Vá para a questão 25)

23a. Se Sim: Fuma agora?

- Sim
- Não

23b. Anos que fumou?

--	--

23c. Número médio de cigarros/dia?

--	--

24. Atualmente toma bebidas alcoólicas?

- Sim
- Não (Vá para a questão 26)

24a. Se Sim: Frequência em que bebe?

- Raramente (<1 dia/semana)
- Ocasionalmente (1-3 dias/semana)
- Frequentemente (4 a 6 dias/semana)
- Diariamente
- Recusou-se a responder

24b. Onde você bebe geralmente? (Marque todas que se aplicarem).

- Bar
- Casa
- Todas acima
- Recusou-se a responder
- Outra

(Especificar)

