

# Tuberculose infantil: novas formas de diagnóstico

Marina Pinheiro<sup>1</sup>, Ana Rita Araújo<sup>1</sup>, Margarida Guedes<sup>II</sup>

## TUBERCULOSIS IN CHILDREN: NEW FORMS OF DIAGNOSIS

### ABSTRACT

**Introduction:** Tuberculosis is still a serious public health problem. To decrease the number of cases of active tuberculosis in populations of low and intermediate incidence, a rapid diagnosis and effective treatment is necessary. The tuberculin test is the recommended method of screening, but there are well-known limitations. Since 2001, the interferon gamma release assays have emerged, being considered useful in the diagnosis of latent infection with *Mycobacterium tuberculosis* and already widely used in adults.

**Objectives:** Summarize the available information on interferon gamma release assays, particularly with regard to the technique; advantages in the diagnosis of latent infection with *Mycobacterium tuberculosis*; sensitivity and specificity in the pediatric population; characterization of interfering factors; and their significance of monitoring of tuberculostatic treatment.

**Development:** Interferon gamma release assays are immunoassays that measure Interferon Gamma Release Assays response to *Mycobacterium tuberculosis* antigens. These tests have been applied in paediatrics population and in regions with different prevalence rates of tuberculosis, in order to compare them with the tuberculin skin test in regard to sensitivity and specificity.

**Conclusions:** Its usefulness as a means of screening in Paediatrics has limitations. Studies are needed at national level to identify how tuberculin skin test and interferon gamma release assays must be articulated. Currently, interferon gamma release assays only complement tuberculin skin test.

**Keywords:** Tuberculosis in children; Tuberculin skin test; QuantiFERON®-TB Gold In-tube; T-SPOT®.TB; Interferon Gamma Release Assay

## RESUMO

**Introdução:** A tuberculose ainda é um grave problema de saúde pública em Portugal. Para diminuir o número de casos de tuberculose ativa em populações de baixa e intermédia incidência, é necessário um diagnóstico rápido e um tratamento eficaz. A prova tuberculínica é o método de rastreio recomendado, mas as suas limitações são conhecidas. Em 2001, foi aprovado o primeiro de diversos *interferon gamma release assays*, considerados úteis no diagnóstico de infeção latente por *Mycobacterium tuberculosis*, amplamente utilizados na abordagem da tuberculose nos adultos.

**Objectivos:** Sumarizar a informação disponível sobre os *interferon gamma release assays*, nomeadamente no que diz respeito à técnica; às vantagens no diagnóstico da infeção latente por *Mycobacterium tuberculosis*; à sensibilidade e especificidade quando aplicados à população pediátrica; à caracterização de fatores interferentes; e ao seu significado na monitorização do tratamento com antituberculosos.

**Desenvolvimento:** Os *interferon gamma release assays* são testes imunologicamente seletivos, desenvolvidos com base em antígenos do *Mycobacterium tuberculosis*. Têm sido aplicados na Pediatria, em regiões com diferentes taxas de prevalência de tuberculose, de forma a compará-los com a prova tuberculínica relativamente à sensibilidade e especificidade.

**Conclusões:** A utilização destes testes como forma de rastreio em Pediatria apresenta limitações. São necessários estudos a nível nacional que permitam mostrar de que forma a prova tuberculínica e os *interferon gamma release assays* se devem articular. Atualmente, os *interferon gamma release assays* apenas complementam a prova tuberculínica.

**Palavras-chave:** Tuberculose infantil; Prova tuberculínica; QuantiFERON®-TB Gold In-tube; T-SPOT®.TB; Interferon Gamma Release Assay

Nascer e Crescer 2015; 24(4): 160-5

<sup>I</sup> S. de Pediatria, Unidade Local de Saúde do Alto Minho. 4901-858 Viana do Castelo, Portugal.

marinapinho25@gmail.com; arita\_araujo@hotmail.com

<sup>II</sup> S. de Pediatria do Centro Materno Infantil do Norte, Centro Hospitalar do Porto. 4099-001 Porto, Portugal. marguedes@gmail.com

**INTRODUÇÃO**

A tuberculose (TB), apesar de ser uma doença evitável e curável, continua a ser um grave problema de saúde pública, sendo considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma emergência mundial. Em todo o mundo, estima-se que 9 milhões de pessoas tenham desenvolvido TB, dos quais 1,5 milhões acabaram por morrer. No total, 550.000 casos e 80.000 mortes ocorreram em crianças.<sup>1</sup> Em Portugal, no ano de 2012, 69 casos foram diagnosticados antes dos 15 anos de idade, 43% dos quais em crianças com menos de cinco anos.<sup>2</sup>

A TB infantil representa um acontecimento-sentinel, sinalizando o contacto com um adulto ou adolescente bacilífero, o que obriga a um inquérito epidemiológico, rastreio dos contactos e tratamento dos indivíduos doentes. Nas crianças com menos de 12 meses, o risco de desenvolver doença, quando expostas e infetadas pelo *Mycobacterium tuberculosis (Mt)*, é de 40%; esta percentagem baixa para 25% nas crianças com 1 a 2 anos e para 10-15% nas crianças mais velhas e adolescentes.<sup>3</sup> De fato, em crianças até aos cinco anos, tanto o risco de progressão para doença ativa como o de desenvolvimento de quadros clínicos mais graves é inversamente proporcional à idade, uma vez que, nesta faixa etária, existe algum grau de compromisso da resposta imunológica.<sup>3,4</sup>

Em países de baixa e intermédia incidência, como é o caso de Portugal, a estratégia para o controlo da TB implica diagnóstico e tratamento eficazes da infeção latente por *Mt*.<sup>5,6</sup> Contudo, ao contrário do adulto, em que o diagnóstico de TB é direto, baseado na clínica e confirmado por exames culturais, na criança o diagnóstico de TB é muitas vezes indireto e depende da história epidemiológica e dos resultados da prova tuberculínica (PT).

A PT foi, durante muitos anos, o único teste disponível, pelo que as suas características e limitações são bem conhecidas (Quadro I e II).<sup>7-9</sup> Em 2001, foi aprovado o primeiro de diversos *interferon gamma release assays (IGRAs)*. Atualmente, estão co-

mercializados dois testes, aprovados pela *Food and Drug Administration: QuantiFERON®-TB Gold In-tube (QFT-GIT)* (Cellestis Limited, Carnegie, Australia) e o *T-SPOT®.TB* (Oxford Immunotec, Abingdon, United Kingdom).<sup>10</sup> A par com o que acontece com a maioria dos novos testes de diagnóstico, os primeiros estudos desenvolvidos e as consequentes primeiras recomendações foram efetuadas e validadas para a população adulta.

**OBJECTIVOS**

Pretende-se, neste artigo, através da revisão da literatura recente, sumarizar a informação disponível sobre os IGRAs, nomeadamente no que diz respeito à técnica; às vantagens no diagnóstico da infeção latente por *Mt*; à sensibilidade e especificidade quando aplicados à população pediátrica; à caracterização de fatores interferentes; e ao seu significado na monitorização do tratamento com antituberculosos.

**DESENVOLVIMENTO**

No sentido de ultrapassar as limitações técnicas da PT e melhorar a sensibilidade e a especificidade no diagnóstico da infeção latente por *Mt*, foram desenvolvidos testes que se baseiam na resposta imunológica celular a antígenos do *Mt*: *early secretory antigenic target 6 (ESAT-6)*, *culture filtrate protein 10 (CFP-10)* e *TB7.7*. Estes antígenos não estão presentes nem no Bacilo Calmette e Guérin (BCG) nem na maioria das micobactérias não tuberculosas (MNT) (exceto *M. flavescens*, *M. marinum*, *M. kansasii* e *M. szulgai*).<sup>11</sup>

Os IGRAs baseiam-se no princípio de que as células T de indivíduos previamente sensibilizados por antígenos do *Mt* libertam interferão gama (IFN-γ) quando reestimuladas por antígenos específicos, o qual pode, atualmente, ser medido pelos métodos *enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)* - QFT-GIT- e pelo *enzyme-linked immunospot assay (ELISPOT)* - T-SPOT®.TB.<sup>12</sup>

**Quadro I.** Vantagens e desvantagens da prova tuberculínica<sup>7-9</sup>

| Vantagens   | Desvantagens  |
|---|---|
| Facilidade de execução<br>Baixo custo<br>Sem necessidade de infraestrutura laboratorial | Possibilidade de má execução técnica<br>Ausência de um valor objetivo de positividade<br>Requere duas visitas a uma unidade de saúde<br>Exige a leitura por uma pessoa habilitada |

**Quadro II.** Causas de falsos negativos e falsos positivos da prova tuberculínica<sup>7-9</sup>

| Falsos Negativos   | Falsos Positivos                                 |
|--|--|
| Infeção por VIH ou imunodeficiência congénita<br>Terapêutica imunossupressora<br>Desnutrição<br>Infeção vírica recente (sarampo, parotidite, varicela, influenza)<br>Vacinação recente com vírus vivos<br>Fase inicial da tuberculose<br>Recém-nascido e criança com menos de 2 anos | Reação Cruzada com o BCG e com a infeção por MNT |

O teste *QFT-GIT*, que veio substituir o *QuantiFERON®-TB Gold (QFT-G)*, deteta o nível de produção de IFN- $\gamma$  em resposta aos antígenos *ESAT-6*, *CFP-10* e *TB7.7*. Para cada doente, a colheita de sangue é incubada em três tubos – um contém os antígenos, outro o controlo positivo “mitogénio” com fitohemaglutinina e o último o controlo negativo, que contém apenas heparina. Os resultados são calculados através de um *software* de análise standard.<sup>11</sup>

No *T-SPOT®.TB*, os antígenos utilizados são o *ESAT-6* e *CFP-10*. As moléculas de IFN- $\gamma$  produzidas pelas células T do sangue periférico são colocadas numa placa contendo anticorpos monoclonais anti-IFN $\gamma$  previamente imunizados, formando manchas expressas em *Spot Forming Units (SFU)*.<sup>10</sup>

O *T-SPOT®.TB* é menos afetado por estados de imunossupressão - quantifica o número de células T produtoras de IFN- $\gamma$ . Por sua vez, o *QFT-GIT*, que quantifica a concentração sérica de IFN- $\gamma$ , tem uma técnica mais conveniente e menos dispendiosa.<sup>10,13</sup>

Uma alta produção de IFN- $\gamma$  em resposta a antígenos do *Mt* indica sensibilização prévia, e não necessariamente doença ativa. Tal como acontece com a PT, os *IGRAs* não permitem distinguir entre doença ativa e latente.<sup>14</sup> Embora não exista uma prova *gold standard* para a infeção latente por *Mt*, e apesar de algumas limitações (Quadro III), os *IGRAs*, comparativamente à PT, têm vantagens no contexto de rastreio de contactos, especialmente se vacinados com BCG e/ou residentes em populações com taxas elevadas de exposição a MNT.<sup>3,5,8-11</sup>

Atualmente, vários artigos científicos e outros documentos normativos internacionais suportam a validade dos *IGRAs* em determinados grupos populacionais específicos. A Direção Geral de Saúde recomenda que os *IGRAs* sejam usados no diagnóstico da infeção latente por *Mt* apenas como complemento da PT, uma vez que subsistem ainda algumas incertezas quanto ao valor destes testes, particularmente em estados de imunossupressão e nas crianças.<sup>14</sup>

### **Aplicabilidade dos IGRAs no diagnóstico da tuberculose em idade pediátrica**

Desde 2001, foram publicados, em número crescente, vários estudos científicos com o objetivo de validar a utilização dos *IGRAs* como teste de diagnóstico de TB na população pediátrica. No entanto, verifica-se uma dificuldade comum e transversal a todos os estudos, resultante do fato da maioria das crianças com TB ativa não ter confirmação do diagnóstico por meio cul-

tural, a prova absoluta de infeção indispensável à determinação da sensibilidade e especificidade destes testes.

A performance dos *IGRAs* tem sido, então, avaliada através das taxas de positividade de acordo com vários fatores, tais como graus de exposição ao *Mt*; idade; vacinação com BCG; prevalência de TB; estados de imunossupressão e análise da relação de concordância/discordância destes resultados com os da PT. O nível de concordância entre a PT e os *IGRAs* varia nos diferentes estudos pediátricos, com a estatística *K* a variar de 0,17 a 0,71.<sup>4,13,15-22</sup>

No diagnóstico de infeção latente por *Mt*, e perante resultados discordantes entre *IGRAs* e PT, a grande dificuldade está no fato de não ser possível determinar se o resultado negativo de um determinado teste ocorre porque este é mais específico ou se, pelo contrário, o resultado positivo de outro ocorreu por aquele ser mais sensível.

Os achados mais consistentes encontrados na literatura mostram que os *IGRAs* apresentam uma melhor especificidade no diagnóstico de infeção latente por *Mt*, especialmente em países com baixa prevalência de TB e elevada taxa de vacinação com BCG.<sup>3</sup>

A sensibilidade dos *IGRAs* em crianças com TB ativa confirmada por cultura varia de 75 a 93%, sendo superior nos países com uma baixa prevalência de TB.<sup>9,12,19,23-26</sup> Os *IGRAs* não são nem superiores nem inferiores à PT no diagnóstico da TB ativa em crianças, pelo que não podem ser utilizados para excluir doença ativa.<sup>9,12,19,22,27</sup>

### **Fatores que influenciam a performance dos IGRAs**

Os resultados indeterminados são uma das principais limitações dos *IGRAs*, com uma percentagem que varia dos 0% aos 35%.<sup>13,24,28</sup>

Os *IGRAs* podem apresentar resultados indeterminados como consequência de erros técnicos, de elevada produção de IFN- $\gamma$  no controlo negativo ou, ainda, se o controlo positivo com fitohemaglutinina (potente mitogénio estimulador de células T) determinar uma baixa ou nenhuma produção de IFN- $\gamma$ . Uma baixa produção em resposta ao “mitogénio” pode ocorrer quando não existem linfócitos suficientes ou por incapacidade dos mesmos em gerar IFN- $\gamma$ .<sup>3,11</sup> Parece haver maior percentagem de resultados indeterminados com os *QFT-G* e *QFT-GIT* do que com o *T-SPOT®.TB*.<sup>7,9,28</sup> No entanto, esta diferença não tem impacto clínico, pois a maioria dos resultados indeterminados do *QFT* são negativos com o *T-SPOT®.TB*.<sup>4</sup>

### **Quadro III. Vantagens e desvantagens dos IGRAs**<sup>5,8-11</sup>

| Vantagens   | Desvantagens  |
|---|---|
| Apenas uma visita médica                                  | Implica a colheita de 3 - 8 ml de sangue periférico                                 |
| Amostra única de sangue periférico                        | Implica processamento da amostra  |
| Resultados em 24 - 48 horas                               | Necessidade de laboratórios diferenciados   |
| Sem interferência pelo BCG e por algumas infeções por MNT | Elevado custo (50-65 euros)   |
| Sem efeito boosting                                       | Baixa sensibilidade em estados de imunossupressão e em crianças com menos de 5 anos |
| Leitura independente do observador                        | Não distingue entre infeção latente e ativa   |

A performance dos *IGRAs* depende de uma resposta imune intacta, pelo que uma das principais causas dos resultados indeterminados é o estado de imunossupressão.<sup>3,13</sup> Parece haver uma relação estatisticamente significativa entre contagens linfocitárias inferiores a 500 células/mm<sup>3</sup> ( $p < 0.00005$ ) e o aumento da incidência destes resultados. Assim, a utilização dos *IGRAs*, nestas condições, deve ser efetuada de forma prudente.<sup>29</sup> Taxas mais elevadas de resultados indeterminados têm sido associadas a idade mais jovem, vírus de imunodeficiência humana (VIH), malnutrição, doença inflamatória intestinal mal controlada, infeção por helmintas, malária e anemia por défice de ferro.<sup>3,13,30-32</sup> Está descrita ainda uma associação entre o resultado indeterminado e o risco de morte. Pensa-se que os estados de imunossupressão associados à doença grave, que condicionam taxas de mortalidade superiores, também contribuam para o aumento destes resultados.

Verificou-se uma relação inversamente proporcional entre a idade e a percentagem de resultados indeterminados. Embora se considere que a produção de IFN- $\gamma$  aumenta com a idade, alguns estudos falharam na demonstração deste facto. Num estudo pediátrico recente, embora as crianças mais novas fossem aquelas com maior taxa de resultados indeterminados, verificou-se que também estas produziam um quantidade de IFN- $\gamma$  semelhante às crianças mais velhas e adolescentes.<sup>4,17,18,22,24,31</sup> Assim, acredita-se que o aumento do número de resultados indeterminados em crianças mais jovens reflete antes uma característica intrínseca dos *IGRAs*, em vez de uma deficiência de produção de IFN- $\gamma$  em resposta aos antigénios e ao controlo positivo neste grupo.<sup>13,26</sup>

As crianças são mais vulneráveis ao desenvolvimento de TB devido à imaturidade do seu sistema imune. Como consequência, os testes baseados nas respostas das células T têm maior probabilidade de serem falsos negativos nas crianças do que nos adultos.<sup>19</sup> O valor de *cutoff* para o *QFT-GIT* é de 0,35 IU/ml e foi estabelecido para adultos.<sup>18</sup> Este valor não foi validado para a população pediátrica, havendo autores que sugerem valores próprios, ajustados às crianças.<sup>15</sup> Todavia, estas sugestões não têm sido postas em prática, uma vez que podem condicionar um aumento do número de falsos positivos.<sup>13,17</sup>

O tempo decorrido entre a exposição ao *Mt* e a positividade dos *IGRAs* ainda não foi determinado, mas pensa-se ser semelhante aos da PT (8 semanas).<sup>15,16</sup> Enquanto a PT é uma reação de hipersensibilidade tardia que mede as funções das células T efectoras e de memória, os *IGRAs* medem apenas a função de células T efectoras. Para se detetar a infeção após uma exposição remota, é necessário medir a resposta das células T de memória, menos provável de ocorrer nas 16-24 horas de tempo de incubação dos *IGRAs*. Em contraste, o tempo de incubação de 48-72 horas da PT permite o recrutamento de ambas as células T efectoras e de memória.<sup>18</sup> Assim, crianças com *IGRA* positivo e PT negativa podem ter uma infeção recente, mas que ainda não teve tempo para que a conversão tuberculínica possa ter ocorrido.<sup>24</sup> É provável que a conversão dos *IGRAs* e da PT não ocorra ao mesmo tempo, o que explica a variação dos níveis de concordância entre os *IGRAs* e a PT na literatura.<sup>16</sup>

Os resultados dos *IGRAs* não são estáveis, tendo-se verificado, num estudo pediátrico que 50% das crianças com *IGRAs* positivo obtiveram um resultado negativo ao fim de três semanas. Essa flutuação pode representar não só a variação do próprio ciclo de produção de IFN- $\gamma$ , como também eventuais erros técnicos.<sup>20</sup> De forma a reduzir estes últimos, recomenda-se que a recolha de sangue seja efetuada por um técnico experiente, que o tempo decorrido desde a colheita até à incubação seja semelhante para todas as amostras e que o processamento das amostras cumpra as recomendações do fabricante.<sup>17</sup>

A prevalência da TB inerente a cada região geográfica influencia o valor preditivo dos *IGRAs*. Nos países com alta prevalência de TB, habitualmente países subdesenvolvidos, é maior a frequência de fatores que interferem com os *IGRAs*, nomeadamente uma maior exposição ao *Mt*, infeção por VIH e outros estados de imunossupressão.<sup>33</sup>

A aplicabilidade dos *IGRAs* pode, também, ser limitada pelo volume de sangue necessário à realização do teste, especialmente em crianças mais pequenas. O *QFT-GIT* implica a colheita de 3 ml de sangue e o *T-SPOT<sup>®</sup>.TB* de 8 ml. Numa tentativa de eliminar esta limitação, a empresa Cellestis desenvolveu um protótipo do *QFT-GIT* que requer apenas 0,9 ml de sangue – *QuantIFERON microtube (QFT-MT)*. É um teste promissor, mas que necessita ainda de estudos em grande escala, controlados e prospetivos, que validem a sua utilização.<sup>34</sup>

A grande variabilidade de resultados obtidos nos diversos estudos relativamente à validade dos *IGRAs* poderá, assim, ser explicada pelos seguintes fatores: prevalência da TB; vacinação pelo BCG; infeção por MNT; tipo de estudo; idade da população testada; critérios de definição de TB ativa; mecanismos imunológicos distintos entre a PT e o *IGRA*; resultado indeterminado; tipo de *IGRA* utilizado; e erros técnicos.

#### ***IGRAs na monitorização do tratamento com antituberculosos***

A ideia de que a atividade das células T produtoras de IFN- $\gamma$  diminui durante o tratamento antituberculoso tem gerado interesse na comunidade científica, com diversos estudos realizados com o propósito de avaliar o seu valor potencial como instrumento de monitorização e follow-up do tratamento. De fato, observou-se uma diminuição dos valores do IFN- $\gamma$  durante o tratamento antituberculoso. Contudo, não se verificou uma diferença significativa no número de resultados positivos 6 meses após o tratamento.<sup>35</sup>

A taxa de conversão para o *QFT-GIT* e *T-SPOT<sup>®</sup>.TB* varia de 6 a 39% e de 9 a 14%, respetivamente.<sup>35,36</sup> As baixas taxas de conversão, apesar do tratamento antituberculoso eficaz, podem acontecer porque: 1) a exposição contínua ao *Mt* pode perpetuar uma resposta imune ao longo do tempo; 2) as células T efectoras podem persistir em circulação durante mais tempo, mesmo após a erradicação da doença; 3) as conversões podem meramente refletir as flutuações na produção de IFN- $\gamma$  ou a variabilidade inerente às diferentes técnicas laboratoriais.<sup>36</sup>

Apesar de promissores, os estudos tem demonstrado que os *IGRAs* seriados têm uma utilidade limitada em crianças submetidas a tratamento antituberculosos.

**CONCLUSÕES**

A utilização dos *IGRAs* continua condicionada pela incapacidade de se determinar a sua efetividade, pois não existe um teste *gold standard* de diagnóstico passível de comparação. Assim, a definição da sua aplicabilidade só pode ser feita através da relação entre probabilidade de exposição ao *Mt* e resultados da PT.

A associação entre uma resposta imunológica menos efetiva e a maior suscetibilidade das crianças à TB torna-as num grupo de risco, onde a PT parece apresentar mais vantagens nas crianças com menos de cinco anos de idade. Um *IGRA* negativo não exclui a presença de TB em crianças.

Os resultados indeterminados têm impacto nas estratégias preconizadas para o controlo da TB infantil. Uma vez que o seu significado ainda não foi esclarecido, alerta-se para possíveis casos de falsos negativos.

A maioria das limitações que os *IGRAs* apresentam poderão ser ultrapassadas através da caracterização das variáveis que interferem com a produção do *IFN-γ*; estabelecimento de valores de *cutoff* mediante a idade; standardização da definição de resultado indeterminado; simplificação da técnica e consequente diminuição dos custos; apresentação dos resultados em valores quantitativos da cultura do micobactério, o que pode permitir distinguir o erro técnico da incapacidade de produção de *IFN-γ*.

Para melhor caracterizar quanto à sua sensibilidade e especificidade, são necessários estudos prospetivos capazes de determinar o número de crianças com PT positiva e *IGRA* negativo não tratadas para a infeção latente por *Mt* e que mais tarde virão a desenvolver doença. Atualmente, os *IGRAs* apenas complementam a PT.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2014. World Health Organization 2013.
2. Duarte R, Diniz A. Programa Nacional de Luta Contra a Tuberculose - Ponto da situação epidemiológica e de desempenho (dados provisórios). Direcção-Geral de Saúde 2013; 1-16.
3. Starke JR and Committee on Infectious Disease. Interferon-γ release assays for diagnosis of tuberculosis infection and disease in children. Pediatrics 2014; 134:e1763-73.
4. Bergamini BM, Losi M, Vaianti F, Amico R, Meccugni B, Meacci M, et al. Performance of commercial blood tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection in children and adolescents. Pediatrics 2009; 123:419-24.
5. Direcção-Geral de Saúde. Circular Informativa N.º 04/PNT de 11/02/2010: Tuberculose Latente: Projecto de expansão dos testes *IGRA*. Direcção-Geral de Saúde 2010; 1-11.
6. Administração Regional de Saúde do Norte, I.P. Departamento de Saúde Pública. Programa de Luta contra a Tuberculose - Planeamento do Rastreio de Contatos de Doentes com Tuberculose. Administração Regional de Saúde do Norte 2013; 1-11.
7. Pediatric Tuberculosis Collaborative Group. Targeted tuberculin skin test and treatment of latent tuberculosis infection in children and adolescents. Pediatrics 2004; 114:1175-201.
8. Duarte R. Teste tuberculínico. Como otimizar? Rev Port Pneumol 2009; XV:295-304.
9. Cruz AT, Geltemeyer AM, Starke JR, Flores JA, Graviss EA, Smith KC. Comparing the tuberculin skin test and T-SPOT. TB blood test in children. Pediatrics 2011; 127:31-8.
10. Pai M, Menzies D. Interferon-gamma release assays for diagnosis of latent tuberculosis infection. Uptodate 2015. Disponível em: <http://www.uptodate.com/contents/interferon-gamma-release-assays-for-diagnosis-of-latent-tuberculosis-infection>.
11. European Centre for Disease Prevention and Control. Use of interferon-gamma release assays in support of TB diagnosis. European Centre for Disease Prevention and Control 2011; 1-32.
12. Bamford ARJ, Crook AM, Clark JE, Nademi Z, Dixon G, Paton JY, et al. Comparison of interferon-γ release assays and tuberculin skin test in predicting active tuberculosis (TB) in children in the UK: a paediatric TB network study. Arch Dis Child 2010; 95:180-6.
13. Haustein T, Ridout DA, Hartley JC, Thaker U, Shingadia D, Klein NJ, et al. The likelihood of an indeterminate test result from a whole-blood interferon-γ release assay for the diagnosis of mycobacterium tuberculosis infection in children correlates with age and immune status. Pediatr Infect Dis J 2009; 28:669-73.
14. Direcção-Geral de Saúde. Orientação N.º 012/2011 de 06/05/2011: Posição da Direcção-Geral de Saúde sobre o uso dos testes *IGRA* para o diagnóstico da infeção tuberculosa latente. Direcção-Geral de Saúde 2011; 1-4.
15. Okada K, Mao TE, Mori T, Miura T, Sugiyama T, Yoshizawa T, et al. Performance of an interferon-gamma release assay for diagnosing latent tuberculosis infection in children. Epidemiol Infect 2008; 136:1179-87.
16. Hill PC, Brookes RH, Adetifa IMO, Fox A, Jackson-Sillah D, Lugos MD, et al. Comparison of enzyme-linked immunospot assay and tuberculin skin test in healthy children exposed to mycobacterium tuberculosis. Pediatrics 2006; 117:1542-8.
17. Connell TG, Curtis N, Ranganathan SC, Buttery JP. Performance of a whole blood interferon gamma assay for detecting latent infection with mycobacterium tuberculosis in children. Thorax 2006; 6:616-20.
18. Lighter J, Rigaud M, Eduardo R, Peng CH, Pollack H. Latent tuberculosis diagnosis in children by using the QuantiFERON-TB gold in-tube test. Pediatrics 2009; 123:30-7.
19. Kampmann B, Whittaker E, Williams A, Walters S, Gordon A, Martinez-Alier N, et al. Interferon-γ release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test. Eur Respir J 2009; 33:1374-82.
20. Nkurunungi G, Lutangira JE, Lule SA, Akurut H, Kizindo R, Fitchett JR, et al. Determining mycobacterium tuberculosis infection among BCG-immunised Uganda children by T-SPOT. TB and tuberculin skin testing. Plos ONE 2012; 7:e47340.

21. Adetifa IMO, Ota MOC, Jeffries DJ, Hammond A, Lugos MD, Donkor S, et al. Commercial interferon gamma release assays compared to the tuberculin skin test for diagnosis of latent mycobacterium tuberculosis infection in childhood contacts in the Gambia. *Pediatr Infect Dis J* 2010; 29:439-43.
22. Nicol MP, Davies MA, Wood K, Hatherill M, Workman L, Hawkrigge A, et al. Comparison of T-SPOT.TB assay and tuberculin skin test for the evaluation of young children at high risk for tuberculosis in a community setting. *Pediatrics* 2009; 123:38-43.
23. Debord C, Lauzanne AD, Gourgouillon N, Guérin-El Khourouj V, Pédrón B, Gandelus J, et al. Interferon-gamma release assay performance for diagnosing tuberculosis disease in 0- to 5-year-old children. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30:995-7.
24. Bianchi L, Galli L, Moriondo M, Veneruso G, Becciolini L, Azzari C. Interferon-gamma release assay improves the diagnosis of tuberculosis in children. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28:510-4.
25. Detjen AK, Keil T, Roll S, Hauer B, Mauch H, Wahn U, et al. Interferon- $\gamma$  release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. *CID* 2007; 45:322-8.
26. Altet-Gómez N, Souza-Galvao M, Latorre I, Milà C, Jiménez MA, Solsona J, et al. Diagnosing TB infection in children analysis of discordances using in vitro tests and the tuberculin skin test. *Eur Respir J* 2011; 37:1166-74.
27. Ling DI, Nicol MP, Pai M, Pienaar S, Dendukuri N, Zar HJ. Incremental value of T-SPOT.TB for diagnosis of active pulmonary tuberculosis in children in a high-burden setting: a multivariable analysis. *Thorax* 2013; 68:860-6.
28. Mandakalas AM, Hesseling AC, Chegou NN, Kirchner HL, Zhu X, Marais BJ, et al. High level of discordant IGRA results in HIV-infected adults and children. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008; 12:417-23.
29. Carvalho AC, Schumacher RF, Bigoni S, Soncini E, Notarangelo L, Apostoli A, et al. Contact investigation based on serial interferon-gamma release assays (IGRA) in children from the hematology-oncology ward after exposure to a patient with pulmonary tuberculosis. *Infection* 2013; 41:827-31.
30. Banfield S, Pascoe E, Thambiran A, Siafarikas A, Burgner D. Factors associated with the performance of a blood-based interferon- $\gamma$  release assay in diagnosing tuberculosis. *Plos ONE* 2012; 7:e38556.
31. Critselis E, Amanatidou V, Syridou G, Spyridis NP, Mavrikou M, Papadopoulos NG, et al. The effect of age on whole blood interferon-gamma release assay response among children investigated for latent tuberculosis infection. *J Pediatr* 2012; 161:632-8.
32. Thomas TA, Mondal D, Noor Z, Liu L, Alam M, Haque R, et al. Malnutrition and helminth infection affect performance of an interferon  $\gamma$ -release assay. *Pediatrics* 2010; 126:1522-9.
33. Mahomed H, Hawkrigge T, Verver S, Abrahams D, Geiter L, Hatherill M, et al. The tuberculin skin test versus QuantiFERON TB Gold in predicting tuberculosis disease in an adolescent cohort study in South Africa. *Plos ONE* 2011; 6:e17984.
34. Rose MV, Kimaro G, Kroidl I, Hoelscher M, Bygbjerg IC, Mfinanga SM, et al. Evaluation of QuantiFERON microtube using 0,9 mL blood, for diagnosing tuberculosis infection. *Eur Respir J* 2013; 41:909-16.
35. Chee CBE, KhinMar KW, Gan SH, Barkham TM, Koh CK, Shen L, et al. Tuberculosis treatment effect on T-cell interferon- $\gamma$  responses to mycobacterium tuberculosis-specific antigens. *Eur Respir J* 2010; 36:355-61.
36. Chiappini E, Bonsignori F, Mangone G, Galli L, Mazzantini R, Sollai S, et al. Serial T-SPOT.TB and QuantiFERON-TB-Gold in-tube assays to monitor response to antitubercular treatment in Italian children with active or latent tuberculosis infection. *Pediatr Infect Dis J* 2012; 31:974-7.

**ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA**

Marina Pinheiro:  
Unidade Local de Saúde do Alto Minho  
Serviço de Pediatria  
Estrada de Santa Luzia  
4901-858 Viana do Castelo, Portugal.  
e-mail: marinapinheiro25@gmail.com

Recebido a 13.05.2014 | Aceite a 28.07.2015