

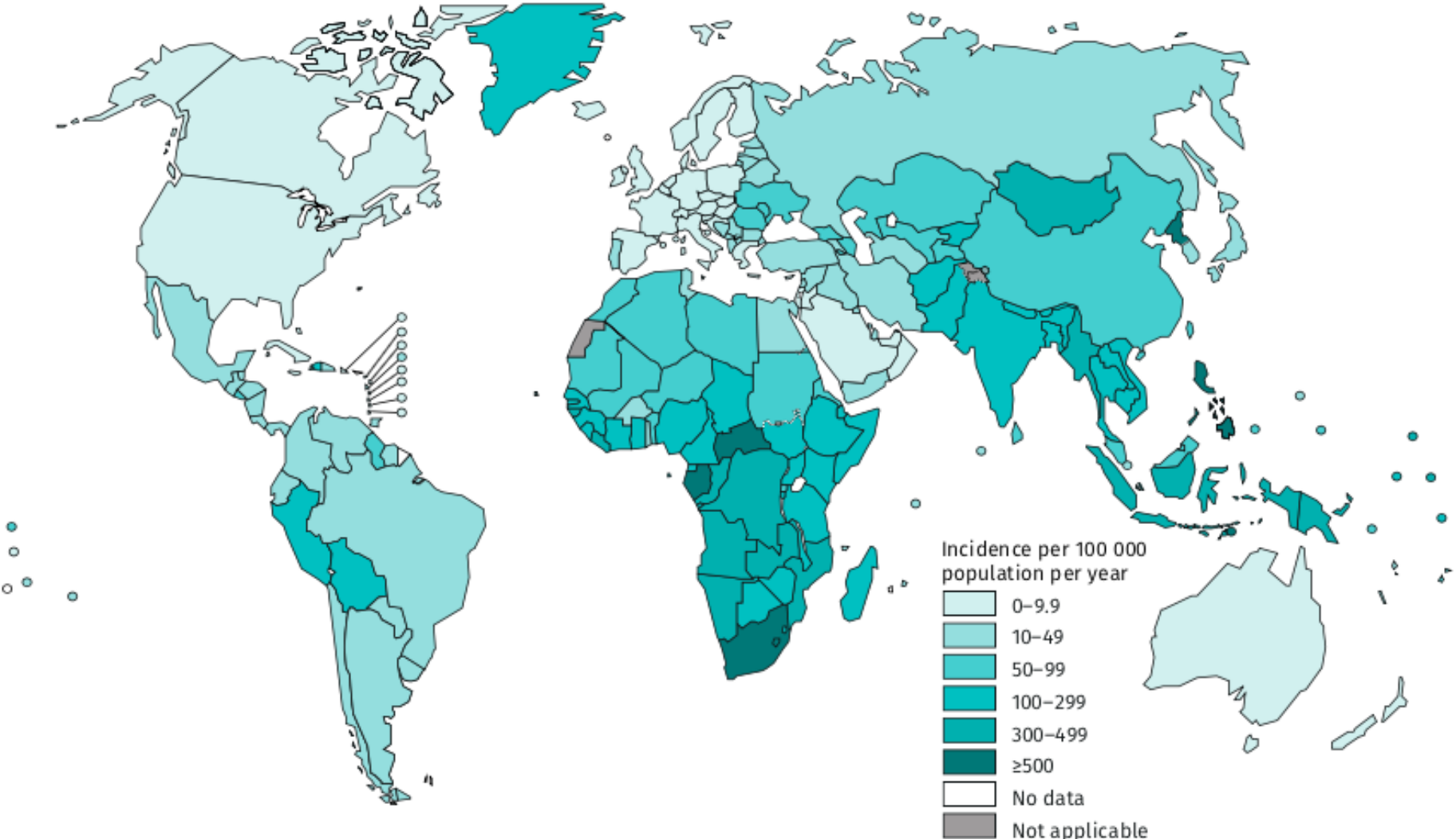
# **Tuberculose latente vs tuberculose ativa: atualização dos testes diagnósticos**

Maria Isabel de Moraes Pinto

Disciplina de Infectologia Pediátrica  
UNIFESP

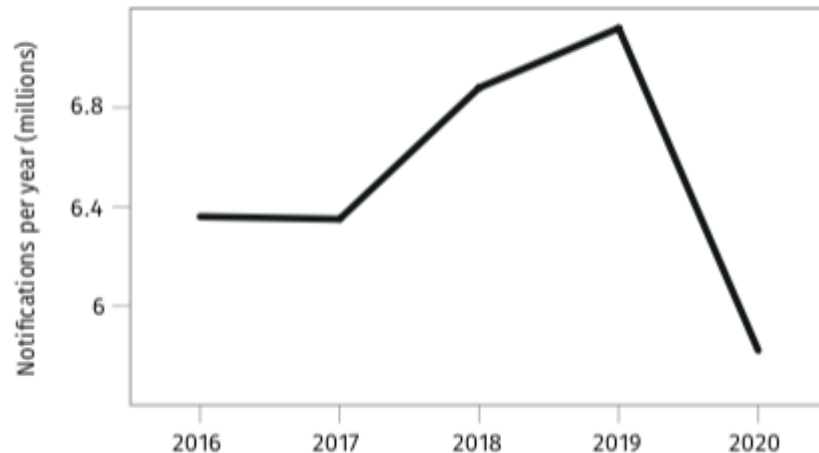


# Coeficiente de incidência de tuberculose, 2020

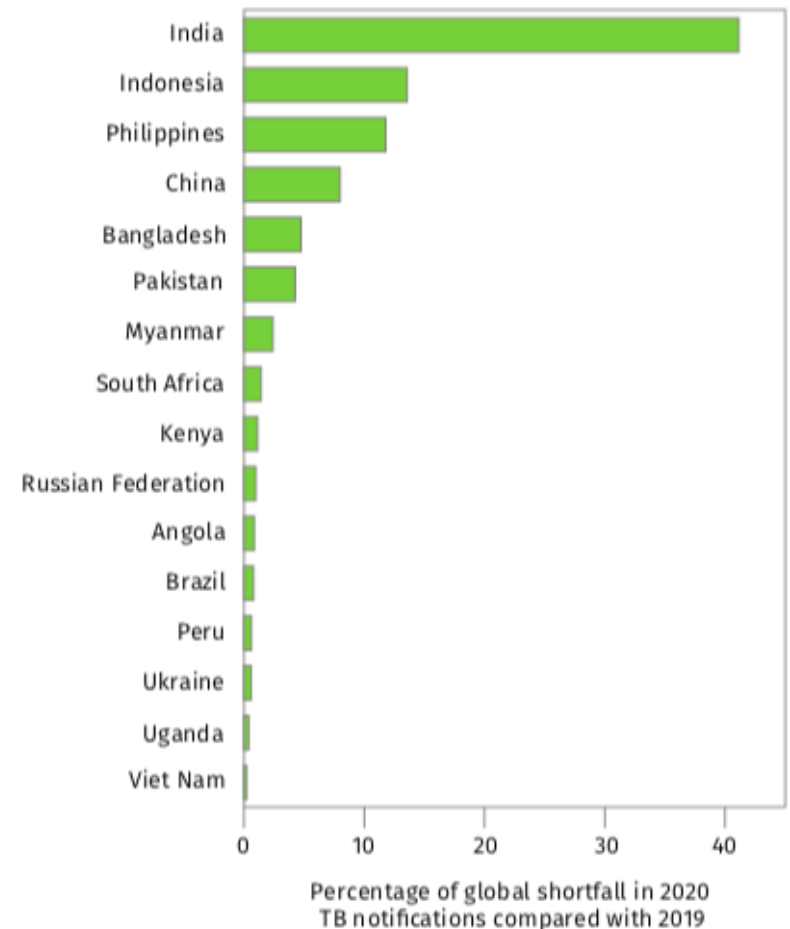


# Tuberculose no mundo após a pandemia por SARS-CoV-2

**Global trend in case notifications of people newly diagnosed with TB, 2016–2020**



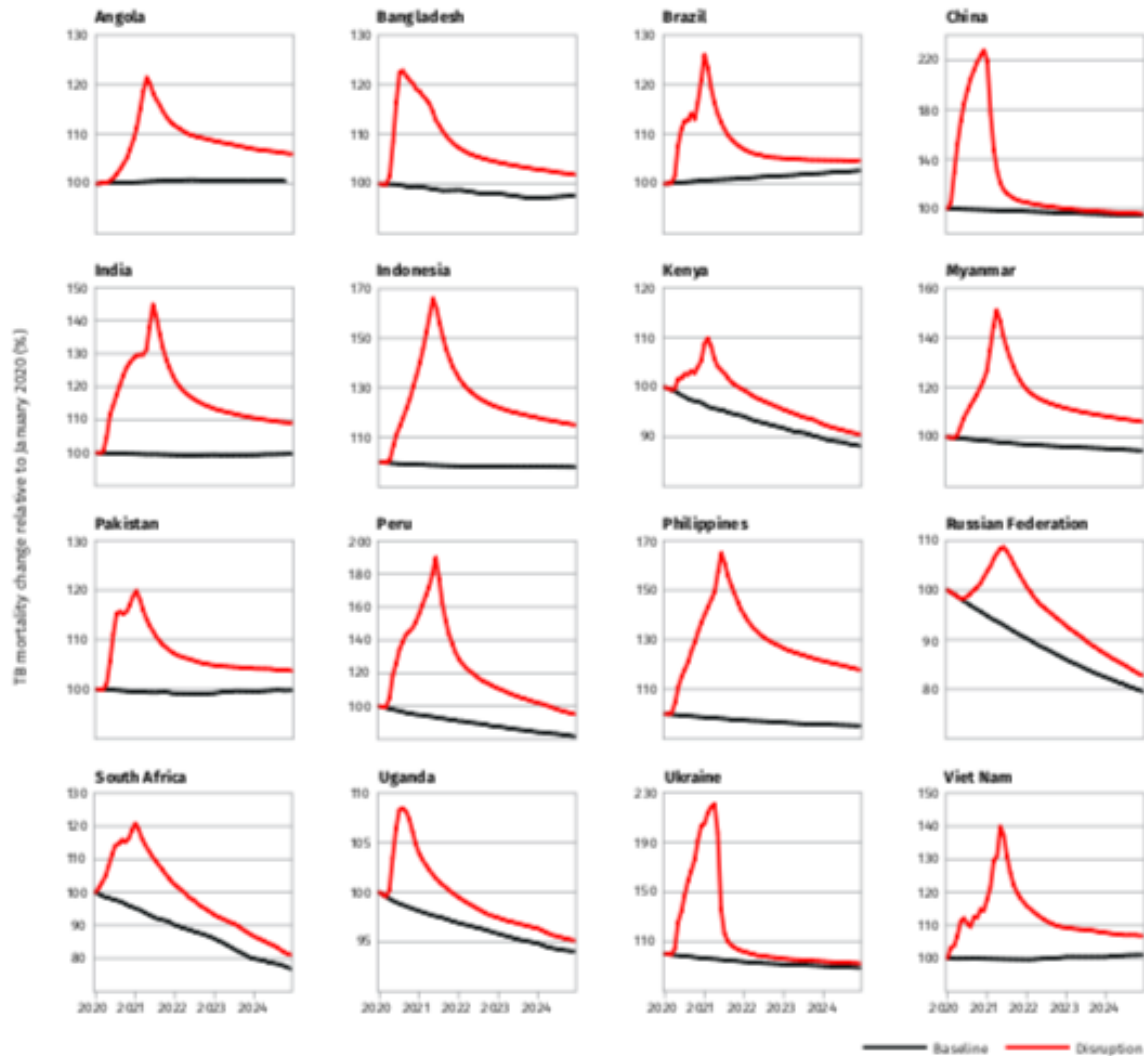
**The 16 countries with the largest contributions to the global shortfall in TB notifications in 2020 compared with 2019**



# Efeito devastador da covid-19 no tratamento da tuberculose

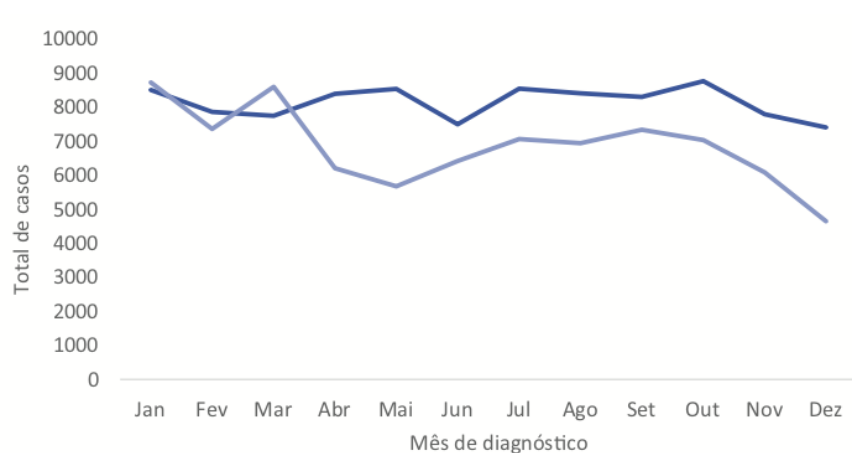
- 2020: 1,5 milhão de mortes por TB no mundo
- Redução de 15% de pessoas tratadas por TB resistente
- Redução de 21% de tratamento de TB latente

# Impacto estimado da pandemia por COVID-19 na mortalidade por TB em 16 países até 2025

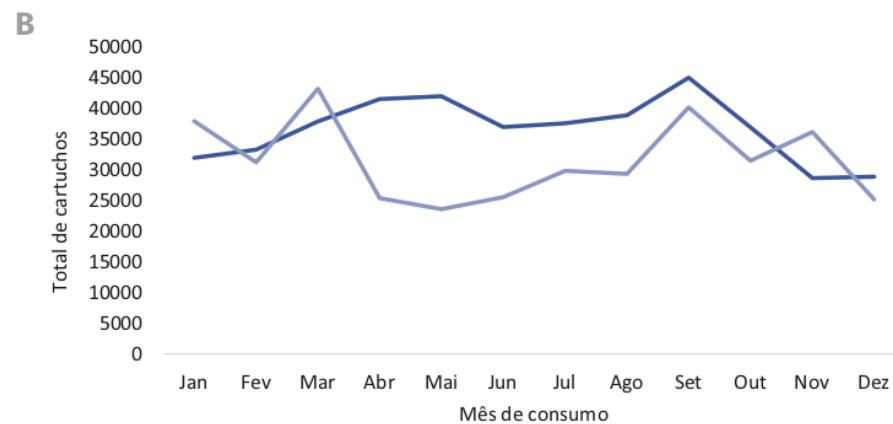


# Tuberculose no Brasil, 2019 e 2020

## Casos Diagnosticados de Tuberculose

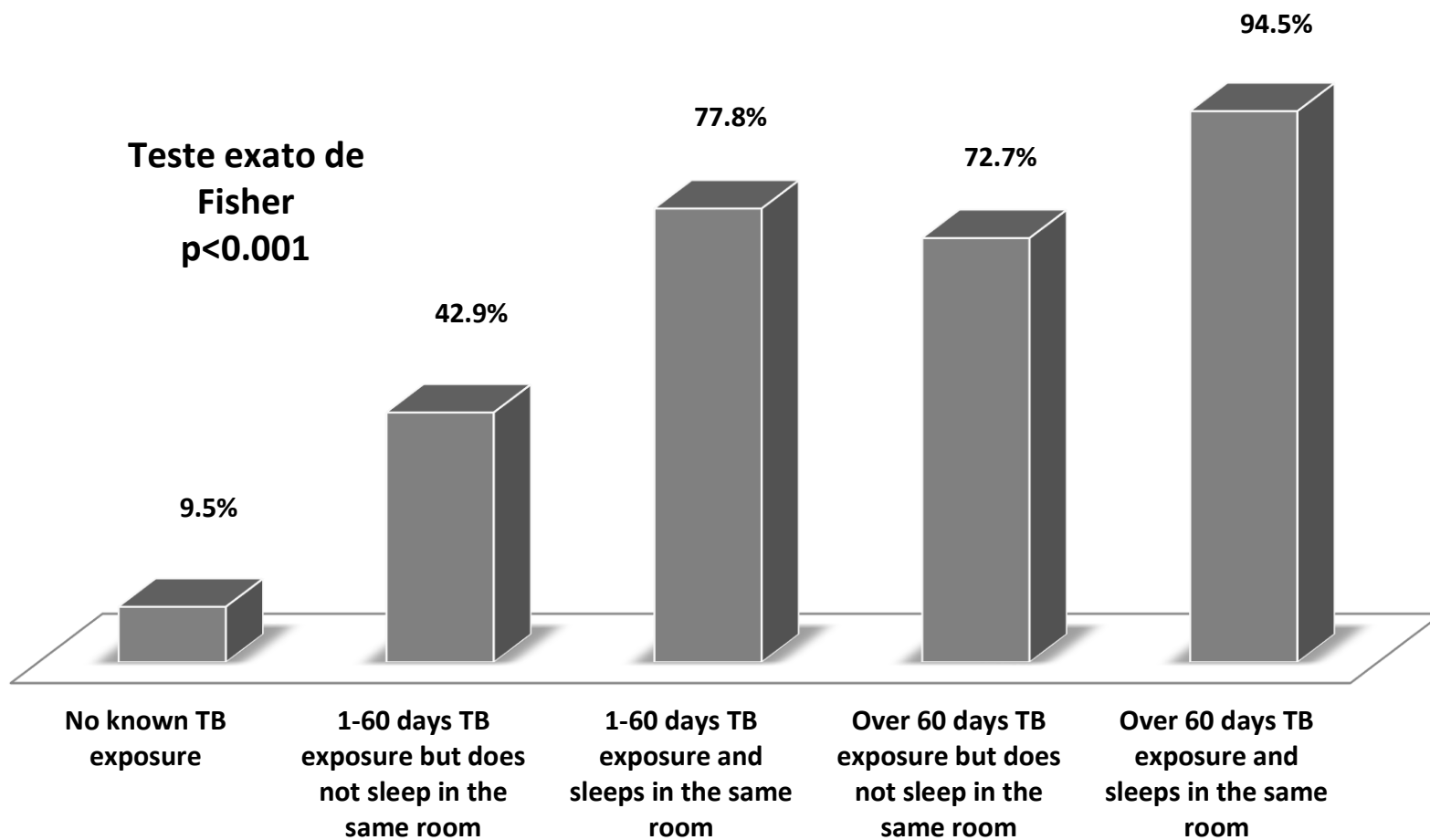


## Consumo de Cartuchos de Teste Rápido Molecular para Tuberculose

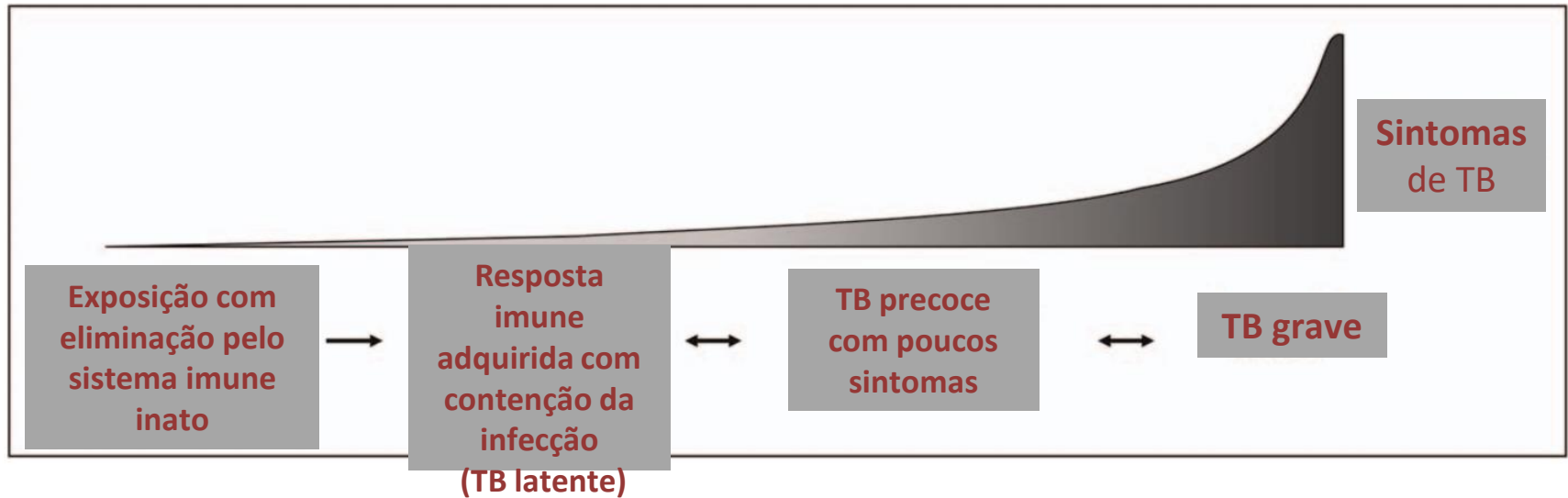


— 2019 — 2020

# Taxa de infecção segundo exposição

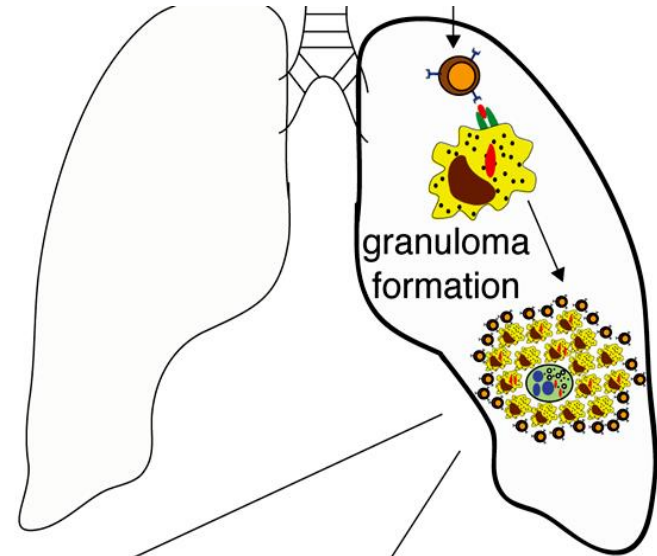


# Espectro da interação tuberculose-hospedeiro

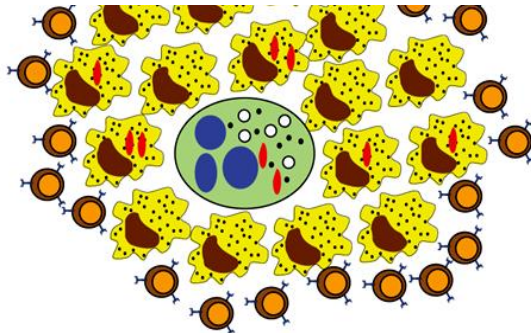




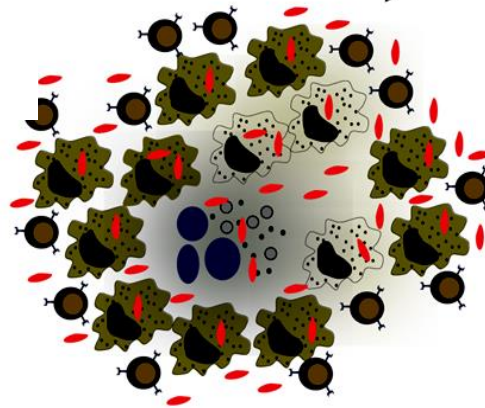
# Imunidade para *M. tuberculosis*



Infecção latente → Tuberculose ativa



Successful containment



Granuloma failure  
Local dissemination

# Fluxograma para investigação de crianças contato (< 10anos)

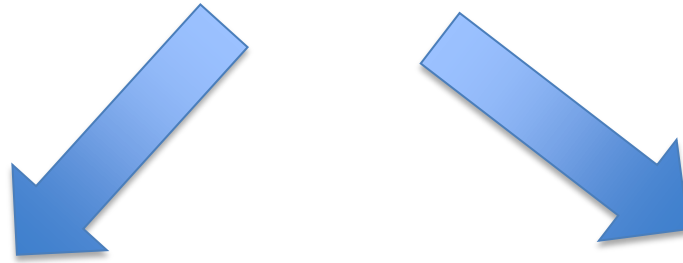


# Prova tuberculínica

- Reação de hipersensibilidade tardia
- Positiva após 2-12 semanas da infecção



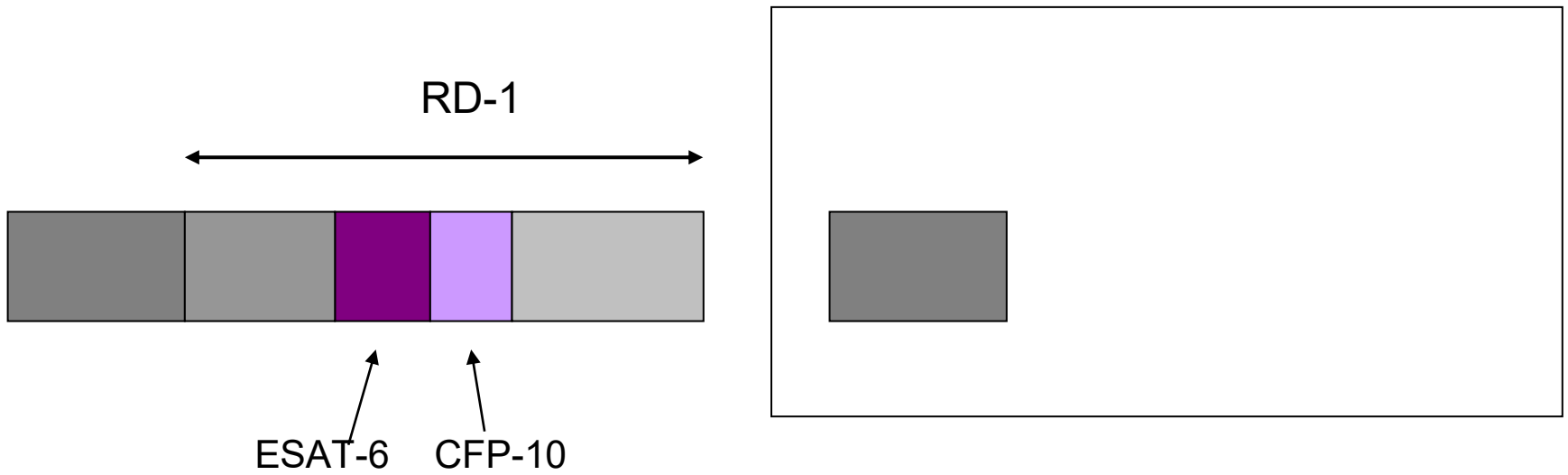
# Ensaio de liberação de interferon-gama pós-estimulação *in vitro*



ELISPOT

Quantiferon

# Interferon-gamma release assays (IGRA)



*M. tuberculosis, M. bovis, M. africanum,  
M. kansasii, M. marinum, M. szulgai*

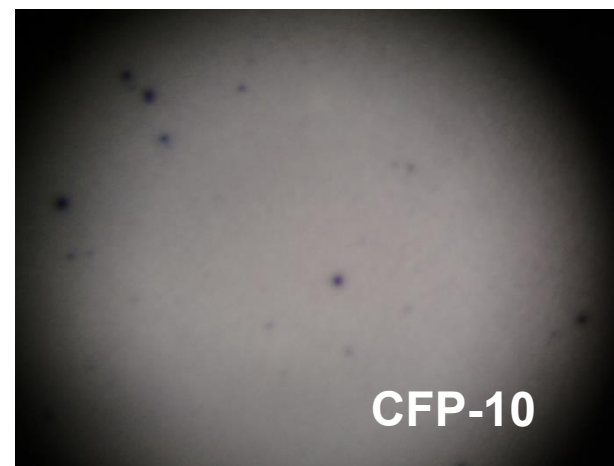
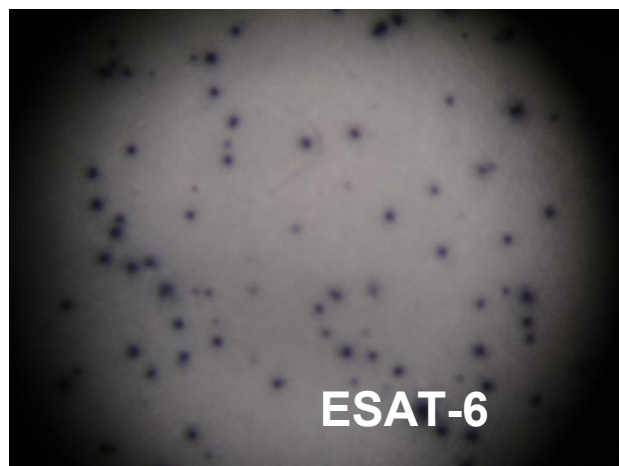
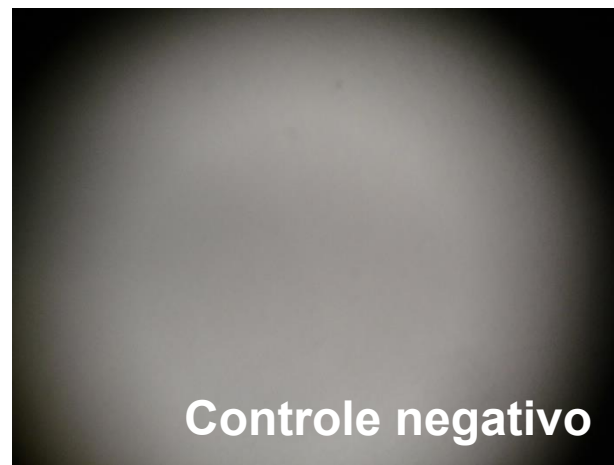
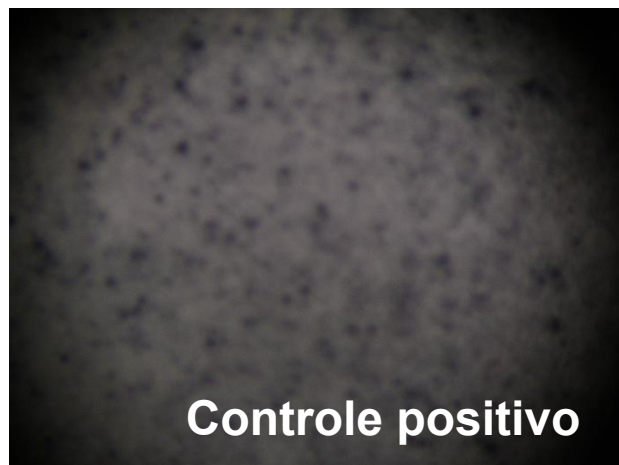
*Cepa BCG e micobactérias atípicas*

# ELISPOT




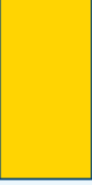
Follow these six easy steps:

<p><b>Step 1</b></p>	<p>Collect the blood sample in a Cell Preparation Tube and centrifuge to separate Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs)</p>																
<p><b>Step 2</b></p>	<p>Wash and count the PBMCs using a microscope and counting chamber or simply run them on a hematology analyser</p>																
<p><b>Step 3</b></p>	<p>Add PBMCs to wells with antigens and incubate overnight (37°C, CO<sub>2</sub>)</p>																
<p><b>Step 4</b></p>	<p>Wash and add secondary antibody</p>																
<p><b>Step 5</b></p>	<p>Wash and add substrate</p>																
<p><b>Step 6</b></p>	<p>Count spots One spot = one T cell</p>	<table border="0"> <thead> <tr> <th>Reactive</th> <th></th> <th>Non Reactive</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>Nil Control</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>Panel A antigen</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>Panel B antigen</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>Positive Control</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Reactive		Non Reactive		Nil Control			Panel A antigen			Panel B antigen			Positive Control	
Reactive		Non Reactive															
	Nil Control																
	Panel A antigen																
	Panel B antigen																
	Positive Control																

# ELISPOT

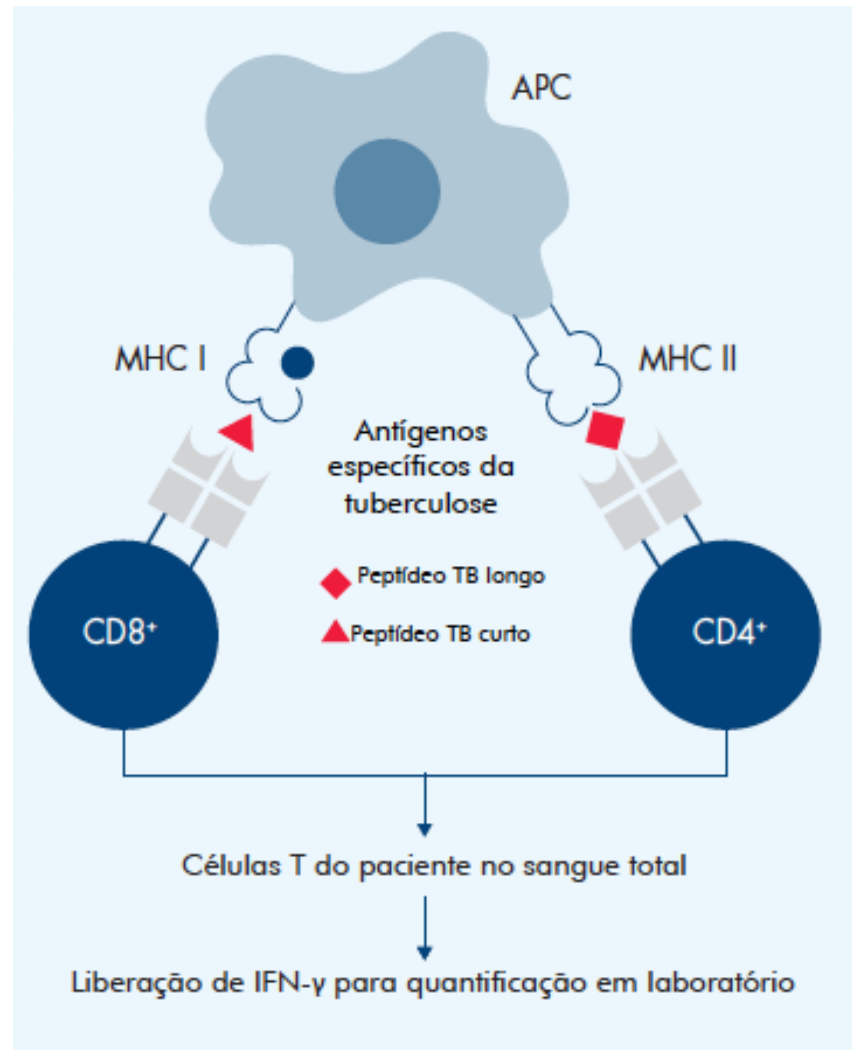


# QuantiFERON®-TB Gold Plus

	Mitógeno - Controle Positivo. Confirma a situação imunológica basal
	Nil - Controle Negativo. Ajusta para o IFN- $\gamma$ de fundo
	TB1 - Detecta principalmente a resposta das células T CD4+
	TB2 - Otimizado para detecção das respostas das células T CD4+ e CD8+



# QuantiFERON®-TB Gold Plus



# Diferenças entre prova tuberculínica e IGRA

PROVA TUBERCULÍNICA	IGRA
Treinamento difícil	Treinamento simples
Pode ser usada de forma seriada (PVHIV, profissionais de saúde)	Testes seriados não recomendados (reversão e conversão espontâneas)
Necessidade de retorno para leitura do exame	Necessita de uma visita para coleta da amostra de sangue
Não necessita do laboratório	Necessita do laboratório
Possibilidade de efeito <i>booster</i>	Não provoca efeito <i>booster</i> (MENZIES; JOSHI; PAI, 2007)
Não existe resultado “indeterminado”	Taxa de resultados indeterminados variável, podendo ser elevada (BAO et al., 2015)

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

---

M. A. G. FERRARINI<sup>1</sup>, F. G. SPINA<sup>1</sup>, L. Y. WECKX<sup>1</sup>, H. M. LEDERMAN<sup>2</sup> AND  
M. I. DE MORAES-PINTO<sup>1\*</sup>

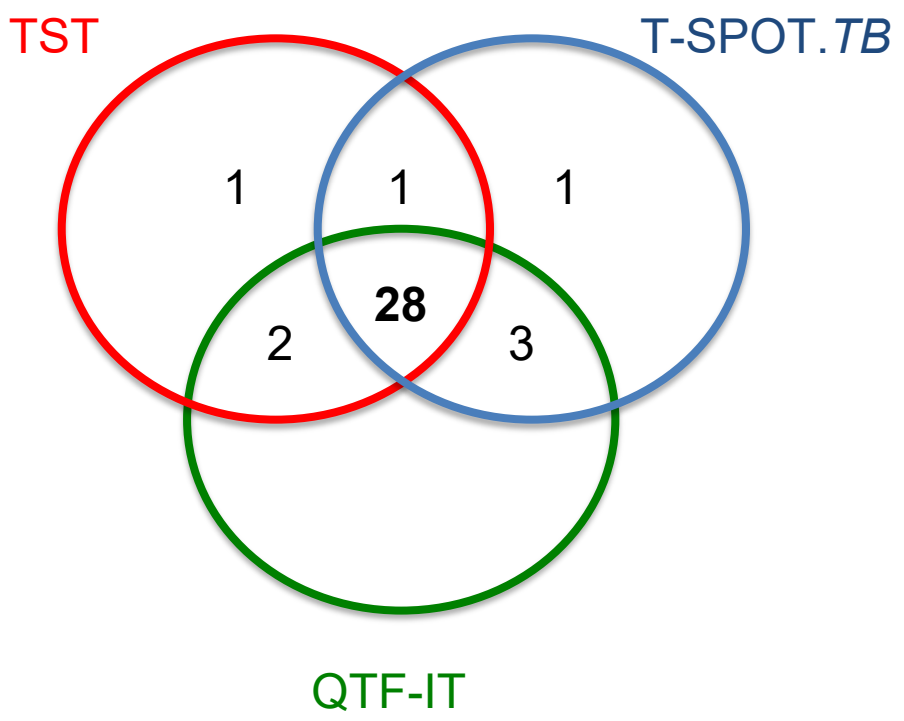
<sup>1</sup>*Department of Pediatrics, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil*

<sup>2</sup>*Department of Diagnostic Imaging, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil*

*Received 30 December 2014; Final revision 9 June 2015; Accepted 7 July 2015*

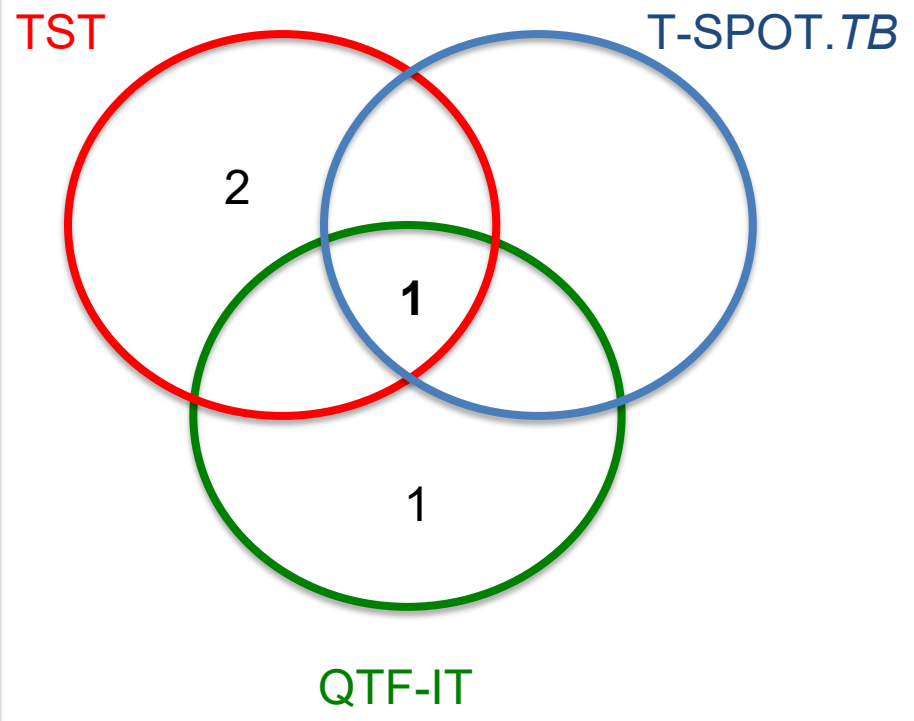
# Concordância entre TST, QFT-IT e T-SPOT.TB na primeira avaliação

**TB-exposed group**



**All tests negative: 21**

**Control group**



**All tests negative: 38**

**Kappa - TT x QFT-IT= 0.807; TT x T-SPOT. TB= 0.798; QFT-IT x T-SPOT. TB= 0.888**

# Incremento dos IGRAs

- ELISPOT adicionou 4 diagnósticos de TB latente em crianças com prova tuberculínica negativa  
(4/25, 16%)
- Quantiferon adicionou 3 diagnósticos de TB latente em crianças com prova tuberculínica negativa  
(3/25, 12%)



# **ELISPOT como auxílio no diagnóstico de TB em Pediatria**

**INT J TUBERC LUNG DIS 22(10):1172–1178**  
© 2018 The Union  
<http://dx.doi.org/10.5588/ijtld.17.0883>

## **Contribution of the interferon-gamma release assay to tuberculosis diagnosis in children and adolescents**

**M. B. V. Silveira, M. A. G. Ferrarini, P. O. Viana, R. C. Succi, M. T. Terreri, B. Costa-Carvalho, F. Carlesse, M. I. de Moraes-Pinto**

**Department of Paediatrics, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, São Paulo, Brazil**

# Características da amostra

- Grupos
  - HIV: 14
  - Autoimune: 11
  - Imunodeficiência: 8
  - Neoplasia: 12
  - Imunocompetentes: 41
- Sexo feminino: 47/86 (55%)
- Mediana da idade: 9,8 anos
- Pacientes eutróficos: 53/86 (61%)



## Resultados de ELISpot válidos vs indeterminados

Resultados	Imunodeficientes	Imunocompetentes
Válidos	32	31
Indeterminados	9	4

**Imunocompetentes x Imunodeficientes**  
**Qui-quadrado,  $p=0,012$**

## Resultados de ELISpot válidos vs indeterminados

Resultados	Imunodeficientes	Imunocompetentes
Válidos	32	31
Indeterminados	9	4

**Imunocompetentes x Imunodeficientes**  
**Qui-quadrado,  $p=0,012$**

## Contribuição do ELISPOT segundo grupo de pacientes

Grupo	ELISpot confirmou diagnóstico	ELISpot afastou diagnóstico
HIV (n=14)	0	0
Autoimune (n=11)	0	2
Imunodeficiência (8)	0	0
Neoplasia (n=12)	2	1
Imunocompetentes (n=41)	6	7

# Contribuição do ELISpot imunocompetentes X imunodeprimidos

Contribuição do ELISpot	Imunodeprimidos (n=45)	Imunocompetentes (n=41)	Total (n=86)
SIM	5 (11%)	13 (32%)	18 (21%)
NÃO	40 (89%)	28 (68%)	68 (79%)

Qui-quadrado,  
p=0,038



## Indicações de IGRAs e de prova tuberculínica

- Identificar casos de infecção latente por TB em adultos e crianças
- Auxiliar no diagnóstico de tuberculose ativa em crianças.



Teste de liberação interferon-gama (*interferon gamma release assay* - IGRA) para detecção de tuberculose latente em pacientes imunocomprometidos

# Decisão do Conitec

- Incorporar o teste de liberação de interferon-gama (interferon gamma release assay - IGRA) para detecção de tuberculose latente em:
  - pessoas vivendo com HIV
  - crianças em contato com casos de tuberculose ativa
  - Pacientes candidatos a transplante de células-tronco

**no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS, conforme Portaria nº 50, publicada no**

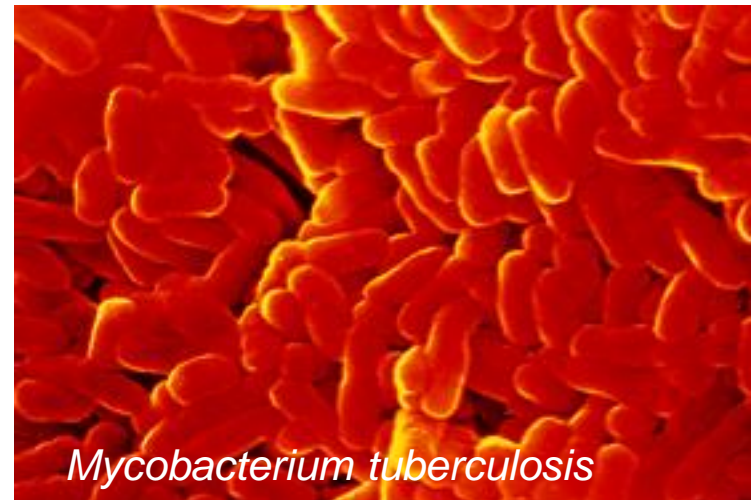
**Diário Oficial da União nº 217, seção 1, página 145, em 13 de novembro de 2020**

# **Uso de testes moleculares para diagnóstico de tuberculose ativa**



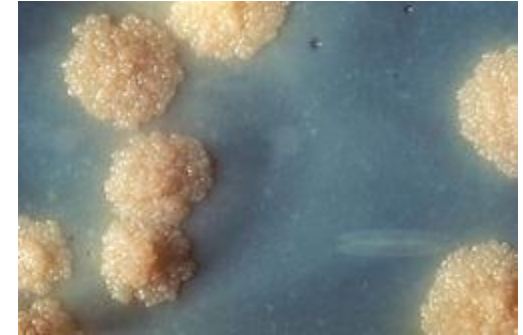
# Características da TB em crianças

- Geralmente paucibacilar
- Amostras de secreções respiratórias difíceis de obter



# Ensaio microbiológicos

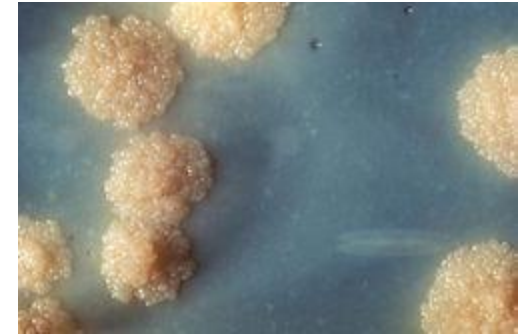
- Coleta da amostra
  - Aspirado gástrico
  - Escarro induzido
  - Lavado broncoalveolar
  - Teste da corda
  - Outras amostras
    - LCR
    - Líquido pleural
    - Fluido sinovial
    - Punção de linfonodo
    - Biópsia de tecido



# Baciloscopia direta

- 10.000 organismos/mL
- Ziehl-Nielsen
- Fluorescência

# Cultura



- Padrão ouro
- Detecta 10-100 organismos/mL
- Meios de cultura
  - Sólido: Lowenstein-Jensen, Middlebrook 7H10 and 7H11 (3-8 semanas)
  - Líquido: Middlebrook 7H9 and 7H12 (7-21 dias)
- Detecção automática em meio líquido: BACTEC (1-3 sem)

# Amplificação de ácidos nucleicos

- Processo automatizado
- Detecta:
  - DNA do complexo *M. tuberculosis*
  - Mutações do gene *rpoB* associadas a resistência a rifampicina
- Cartuchos descartáveis de Xpert MTB/RIF Ultra
  - Evita contaminação cruzada entre espécimes
- Uso em pacientes que não receberam tratamento ou que receberam até 7 dias de tratamento

# Amplificação de ácidos nucleicos

- Adultos: 90% sensibilidade e especificidade
- Pacientes pediátricos: 66% sensibilidade
  - Doença paucibacilar
  - Geralmente BK negativo em escarro

# Acurácia diagnóstica do Xpert Mtb RIF em crianças não infectadas pelo HIV

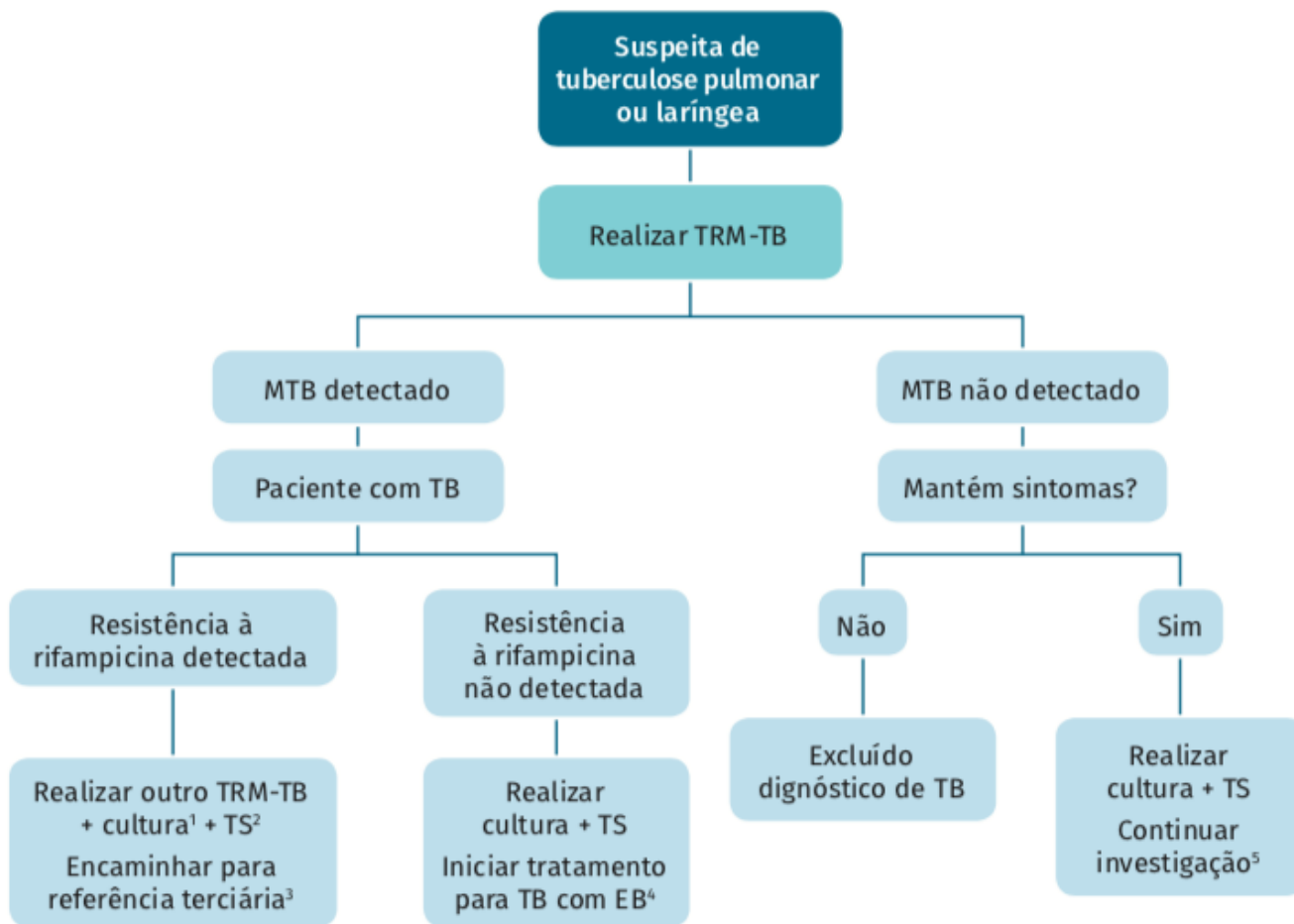
Parâmetro	Exame direto	Xpert	Cultura (BACTEC)
Sensibilidade	9,2%	20,6%	29,0%
Especificidade	100%	94,7%	94,7%

# Amostras recomendadas para realização do Teste Rápido Molecular para TB (TRM-TB)

- escarro
- escarro induzido
- lavado broncoalveolar
- lavado gástrico
- líquido
- gânglios linfáticos e outros tecidos.



# Algoritmo diagnóstico de casos novos de TB pulmonar e laríngea em adultos e adolescentes baseado no TRM-TB



# Diagnóstico da tuberculose pulmonar em crianças e adolescentes com baciloscopia negativa ou TRM-TB não detectado

QUADRO CLÍNICO-RADIOLÓGICO		CONTATO DE ADULTO COM TUBERCULOSE	PROVA TUBERCULÍNICA	ESTADO NUTRICIONAL
Febre ou sintomas como tosse, adinamia, expectoração, emagrecimento, sudorese por 2 semanas ou mais	Adenomegalia hilar ou padrão miliar <b>e/ou</b> Condensação ou infiltrado (com ou sem escavação) inalterado por 2 semanas ou mais <b>e/ou</b> Condensação ou infiltrado (com ou sem escavação) por 2 semanas ou mais, evoluindo com piora ou sem melhora com antibióticos para germes comuns	Próximo, nos últimos 2 anos	PT entre 5-9mm  <b>5 pontos</b>  PT ≥10mm	Desnutrição grave (peso < percentil 10)
<b>15 pontos</b>	<b>15 pontos</b>	<b>10 pontos</b>	<b>10 pontos</b>	<b>5 pontos</b>
Assintomático ou com sintomas há menos de 2 semanas	Condensação ou infiltrado de qualquer tipo por menos de 2 semanas	Ocasional ou negativo	PT < 5 mm	Peso ≥ percentil 10
<b>0 ponto</b>	<b>5 pontos</b>			
Infecção respiratória com melhora após uso de antibióticos para germes comuns ou sem antibióticos	Radiografia normal	0 ponto	0 ponto	0 ponto
<b>- 10 pontos</b>	<b>- 5 pontos</b>			

- ≥ 40 pontos: muito provável
- 30 a 35 pontos: possível
- < 25 pontos: pouco provável

# Conclusões

- O diagnóstico de TB em crianças é ainda um desafio.
- Tanto os ensaios de liberação de interferon-gama quanto o teste rápido molecular podem ser úteis na investigação diagnóstica de tuberculose na criança.
- Diferentes condições de imunodeficiência podem alterar a resposta aos ensaios de liberação de interferon-gama.
- A decisão de tratar ou não tratar deve ser baseada no risco de desenvolvimento de doença/evolução do paciente.
- A combinação de testes pode ser útil em algumas situações clínicas.

Obrigada!

[m.isabelmp@gmail.com](mailto:m.isabelmp@gmail.com)

