



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISA GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina
Investigativa**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO DO INTERFERON-GAMA NO DIAGNÓSTICO E NO
MONITORAMENTO DO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE LATENTE**

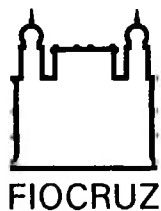
IUKARY OLIVEIRA TAKENAMI

Salvador - Bahia

2011



005635



**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO DO INTERFERON-GAMA NO DIAGNÓSTICO E NO
MONITORAMENTO DO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE LATENTE**

IUKARY OLIVEIRA TAKENAMI

Salvador – Brasil

2011



**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa

**AVALIAÇÃO DO INTERFERON-GAMA NO DIAGNÓSTICO E NO
MONITORAMENTO DO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE LATENTE**

IUKARY OLIVEIRA TAKENAMI

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Marcos Arruda.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa para a obtenção do grau de Mestre.

Salvador – Brasil

2011

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador – Bahia.

T136a Takenami, Iukary Oliveira
Avaliação do interferon-gama no diagnóstico e no monitoramento do tratamento da tuberculose latente[manuscrito] / Iukary Oliveira Takenami. - 2011.
98 f. : il. ; 30 cm.

Datilografado (fotocópia).

Dissertação (mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, 2011.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Marcos Arruda, Laboratório Avançado de Saúde Pública.

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

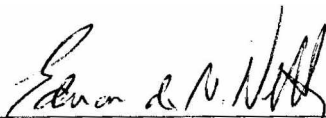
CDU 616-002.5

AVALIAÇÃO DO INTERFERON-GAMA NO DIAGNÓSTICO E NO MONITORAMENTO DO
TRATAMENTO DA TUBERCULOSE LATENTE

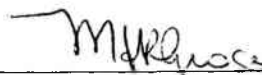
IUKARY OLIVEIRA TAKENAMI

FOLHA DE APROVAÇÃO

COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. Eduardo Martins Netto
Pesquisador Colaborador
FAPEX



Dr^a Maria Fernanda Rios Grassi
Pesquisador Titular
FIOCRUZ/BA

“O pessimista queixa-se do vento, o otimista espera
que ele mude e o realista ajusta as velas”

Willian George Ward

AGRADECIMENTOS

À meus pais, Akihiro Takenami e Nely Oliveira Takenami, aos meus irmãos, Igor e Iugo Takenami, ao meu namorado, Moisés Vieira, pelo apoio e incentivo na realização deste trabalho. Pela compreensão que demonstraram e por me ajudarem a ultrapassar todos os obstáculos que foram surgindo ao longo da minha formação.

Ao Prof. Dr. Sérgio Arruda, meu orientador, pela grande contribuição na minha formação científica, pelo incentivo, pelos ensinamentos e pela confiança depositada ao longo desses anos.

Ao Prof. Dr. Almério Machado Jr., que tanto me ensinou no hospital. A convivência diária no hospital foi fundamental para o meu crescimento profissional e social.

À Dr^a. Theolis Barbosa, por ter me guiado em meus primeiros passos no mundo da pesquisa.

À Brooke Finkmoore, da Universidade de Berkeley, pela orientação e estímulo na realização do artigo.

Ao Dr. Lee Riley pela confiança.

Aos meus queridos amigos do IASP/CPqGM, em especial a Antônio Muniz, Carolina Cavalcante, Dayana Mendes, Elisabete Lopo, Filipe Rego, Luciane Amorim, Jaqueline Rodrigues, Jéssica Petrilli, Juliana Gomes, Joilda Nery, Raimundo Coutinho, Tonya Duarte e Winnie Bastos. Obrigada pelo apoio, amizade e pela companhia diária.

À Luana Leandro, Théssika Hialla e a Tayane Fernandes pela amizade e carinho desde a época da faculdade.

À Marina Loyola Dantas, por toda cumplicidade, pelas conversas, risadas, sempre presente com uma palavra de carinho, apoio, incentivo e amizade.

À todos os meus amigos, em especial a Gisele dos Santos e a Maurício Pedrosa Reis por saberem como é, e compreenderem a minha ausência, falta de tempo, cansaço e desabafos.

Aos estudantes de Medicina da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, pela ajuda imprescindível nas entrevistas e busca ativa dos pacientes índices.

Aos técnicos do Laboratório do Hospital Especializado Octávio Mangabeira, em especial a Raildes Maria do Espírito Santo e Ana Nunes pela colaboração com a realização desta pesquisa.

À todos os colegas e Professores da Pós Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa pelo convívio e aprendizado.

À Taise Caires por toda a sua paciência ao longo desses dois anos. Obrigada pela assistência.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Tuberculose (INCT-TB/CAPES) pelo apoio financeiro.

E como não poderia deixar de ser, agradeço imensamente aos voluntários que participaram deste estudo, sem os quais seria impossível a realização deste trabalho.

RESUMO

A identificação e o tratamento dos indivíduos com tuberculose latente (TBL), ou seja, infectados, são medidas essenciais para o controle e eliminação da TB. Entretanto, os recursos disponíveis para o diagnóstico da TBL no Brasil são falhos, o que dificulta a identificação e o tratamento precoce. A fim de eliminar as atuais limitações dos testes empregados, novos testes têm sido desenvolvidos, a exemplos do ensaios de liberação de interferon-gama (IGRAs). A introdução dos IGRAs para uso de rotina em países de alta prevalência tem sido questionada. Principalmente, devido ao grande número de resultados discordantes gerado entre os testes diagnósticos: IGRA e o teste tuberculínico (TT). O Objetivo do estudo foi analisar os fatores associados com a discordância entre o resultados dos testes IGRA e o TT; avaliar a prática e a aderência do tratamento da TBL em uma população de alto risco; e avaliar o IGRA comercial para monitorar a resposta ao tratamento. Comunicantes domiciliares de pacientes com TB pulmonar recém diagnosticados foram submetidos a radiografia do tórax, coleta de sangue para realização do IGRA, e a um questionário específico. Os comunicantes que tiveram resultado do TT positivo, ≥ 10 mm, foram convidados a retornar ao hospital a cada mês para reposição dos comprimidos de isoniazida (II). Após um período de seis meses eles foram novamente submetidos a uma segunda coleta de sangue para a realização do IGRA. Dos 261 comunicantes satisfatoriamente testados pelo TT, 145 (55,6%) tiveram resultados positivos; dos 298 satisfatoriamente testados pelo IGRA, 127 (43,1%) tiveram resultados positivos. A concordância entre os testes foi de 0,76 ($\kappa = 0,53$, IC 95% 0,43-0,63). Sessenta e um (24%) tiveram resultados discordantes: 44 (72%) com o TT-positivo e IGRA-negativo e 17 (28%), com TT-negativo e IGRA-positivo. Comparado com o grupo TT-negativo e IGRA-negativo, os grupos TT-positivo e IGRA-negativo e o grupo TT-positivo e IGRA-positivo foram significativamente mais propensos a ter uma radiografia de tórax apresentando nódulo calcificado (OR = 6,8, IC 95% 1,3-35,0; OR = 7,4, IC 95% 2,2-24,4, respectivamente). O grupo TT-negativo e IGRA-positivo foi exposto ao paciente índice por mais tempo do que o grupo TT-negativo e IGRA-negativo (OR = 7,2, IC 95% 1,7-29,3). Dos 101 comunicantes que iniciaram o tratamento para TBL, 54 (53,5%) completaram o esquema de 6 meses. O risco de não conclusão do tratamento foi significativamente maior nos comunicantes que relataram efeitos colaterais para H (RR 2,69, IC 95% 1,3-5,8, $P = 0,01$), e os que necessitavam ingressar em duas rotas de ônibus para uma viagem de ida ao hospital (RR 1,8, IC 95% 1,01-3,3, $P = 0,04$). Dos 26 comunicantes que retornaram para uma segunda coleta de sangue, 25 (96%) apresentaram nível de IFN- γ superior ao seu nível antes do tratamento ($P \leq 0,001$). Apenas uma pessoa teve uma diminuição do nível de IFN- γ após o tratamento, mas manteve-se positivo para TBL. Em um cenário de alta transmissão, o nível de IFN- γ aumentou após o tratamento da TBL. Os grupos TT-positivo e IGRA-negativo e TT-positivo e IGRA-positivo compartilham características mais semelhantes entre si do que com o grupo TT-negativo e IGRA-negativo. Em uma configuração endêmica para a TB, os resultados do TT parecem ser mais adequado na decisão de tratar a TBL. Quase 50% dos comunicantes com alto risco de desenvolver TB, concluíram um curso de 6 meses de tratamento para TBL. O tratamento foi mais afetado por intolerância à medicação e pelas dificuldades para visitas de acompanhamento. Além disso, mais estudos devem ser realizados para entender se a elevação dos níveis de IFN- γ é passageira.

Palavras-chave: Tuberculose latente, ensaio de liberação de interferon-gama, teste tuberculínico, comunicantes domiciliares, isoniazida.

ABSTRACT

The identification and treatment of individuals with latent tuberculosis infection (LTBI) are essential to control and eliminate TB. However, the resources available for the diagnosis of LTBI in Brazil are flawed, which complicates the identification and early treatment. In order to overcome the current limitations of the tests used, new tests have been developed. An example of a new test is called interferon-gamma release assays (IGRAs). The introduction of IGRAs for routine use in high prevalence countries has been questioned. Mainly due to the large number of discordant results generated from diagnostic tests: tuberculin skin test (TST) and IGRA. The objective of this study was to analyze factors associated with discordance between TST and IGRA results; to examine the practice of and adherence to LTBI treatment in a high-risk population and to evaluate the commercial IGRA to monitor response to treatment. Household contacts of patients recently diagnosed as pulmonary TB were submitted to chest radiography, blood collection for the achievement of IGRA and a specific questionnaire. Contacts who had a positive TST result, ≥ 10 mm, were asked to return to the hospital once a month for 6 months for follow-up visits and isoniazid (H) refills. After a period of six months these individuals were subjected to a second blood sample to carry out the IGRA. Of 261 household contacts satisfactorily tested by TST, 145 (55.6%) had positive TST results; of 298 satisfactorily tested by IGRA, 127 (43.1%) had positive results. The test agreement was 0.76 ($\kappa = 0.53$, 95%CI 0.43–0.63). Sixty-one (24%) were discordant: 44 (72%) with TST-positive and IGRA-negative and 17 (28%) with TST-negative and IGRA-positive results. Compared to the TST-negative and IGRA-negative group, the TST-positive and IGRA-negative and TST-positive and IGRA-positive groups were significantly more likely to have a chest X-ray showing old lung scars (OR = 6.8, 95%CI 1.3–35.0; OR = 7.4, 95%CI 2.2–24.4, respectively). The TST-negative and IGRA-positive group was exposed to their index cases for significantly longer than the TST-negative and IGRA-negative group (OR = 7.2, 95%CI 1.7–29.3). Of 101 household contacts who initiated LTBI treatment, 54 (53.5%) completed the 6-month regimen. The risk of treatment non-completion was significantly higher in household contacts who reported side effects to H (RR 2.69, 95%CI 1.3–5.8, $P = 0.01$), and in those who had to take two buses for a one-way trip to the hospital (RR 1.8, 95%CI 1.01–3.3, $P = 0.04$). Of the 26 study participants, 25 (96%) showed an IFN- γ level higher than their baseline level before treatment ($P \leq 0.001$). Only one individual had a decreased IFN- γ level after treatment but remained positive for LTBI. In a high-transmission setting, the IFN- γ level has increased after LTBI treatment. The TST-positive and IGRA-negative and TST-positive and IGRA-positive groups shared more similar characteristics with each other than with the TST-negative and IGRA-positive group. In a setting endemic for TB, TST results appear to be more suitable in the decision to treat latent TB infection. Nearly 50% of household contacts at high risk for developing TB completed a 6-month course of LTBI treatment. Completion of LTBI treatment was most affected by medication intolerance and commuting difficulties for follow-up visits. In addition, more studies are needed to understand whether the increased level of IFN- γ is transient.

Key words: Latent tuberculosis infection, interferon-gamma release assay, tuberculin skin test, household contacts, isoniazid.

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS	Pag.
Figura 2.1: Novos casos de tuberculose registrados no mundo durante o ano de 2007	15
Figura 2.2: Micrografia eletrônica do <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (A). Principais constituintes da parede celular do gênero <i>Mycobacterium</i> demonstrado esquematicamente (B)	16
Figura 2.3: Estrutura química da isoniazida	24
Figura 5.1: Desenho experimental do estudo	30
Figura 5.2: Técnica de inoculação do derivado protéico purificado	32
Figura 5.3: Leitura do teste tuberculínico pelo método de palpação do diâmetro transversal máximo de induração	32
APÊNDICE 01	
Figure 1: Flowchart of recruitment into study	74
ARTIGO	
Figure 1: The difference between the baseline and follow-up IGRA result according to the number of months elapsed between the completion of isoniazid treatment and the follow-up examination	49
Figure 2: Flow chart of the study population and the study participants	49
Figure 3: IFN- γ levels before and after isoniazid treatment for latent tuberculosis infection measured by QFT-IT stratified by baseline QFT-IT result; (A) positive QFT-IT and (B) negative QFT-IT	50

LISTA DE TABELAS

TABELAS -----	Pág.
APÊNDICE 01	
Table 1: Characteristics of 76 pulmonary tuberculosis patients and their households -----	75
Table 2: Characteristics of 301 household contacts of 76 pulmonary tuberculosis patients -----	75
Table 3: Median values of principal characteristics of household contacts: the positive concordant (TST+/IGRA+) group and the discordant groups (TST+/IGRA- and TST-/IGRA+) compared to the reference group (TST-/IGRA-) -----	75
Table 4: Principal covariates associated with discordant test results: the TST+/IGRA- group compared to the reference group (TST-/IGRA-) --	76
Table 5: Principal covariates associated with discordant test results: the TST-/IGRA+ group compared to the reference group (TST-/IGRA-) -----	77
Table 6: Principal covariates associated with positive concordant tests: the TST+/IGRA+ group compared to the reference group (TST-/IGRA-) ---	77
APÊNDICE 02	
Table 1: Characteristics of household contacts who initiated latent tuberculosis infection treatment -----	83
Table 2: Risk for failure to complete 6 months of isoniazid treatment for latent tuberculosis infection among household contacts of index cases hospitalized with pulmonary tuberculosis -----	85
Table 3: Risk factors for immediate loss to follow-up among household contacts of index cases hospitalized with pulmonary tuberculosis who initiated treatment for latent tuberculosis infection -----	86

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- BAAR:** Bacilo álcool-ácido resistente
- BCG:** Bacilo Calmette-Guérin
- CD:** *Cluster of differentiation*
- CDC:** *Centers for Disease Control*
- CEP:** Conselho de Ética em Pesquisa
- CFP-10:** *Culture filtrate protein-10*
- CPqGM:** Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz
- DATASUS:** Banco de Dados do Sistema Único de Saúde
- ELISA:** *Enzyme linked immuno sorbent assay*
- ELISPOT:** *Enzyme linked immunospot assay*
- ESAT-6:** *Early secretory antigenic target-6*
- FDA:** *Food and Drug Administration*
- FIOCRUZ:** Fundação Oswaldo Cruz
- H:** Isoniazida
- HEOM:** Hospital Especializado Octávio Mangabeira
- HLA:** *Human Leukocyte Antigen*
- HIV:** Vírus da imunodeficiência humana
- IFN- γ :** Interferon-gama
- IC:** Intervalo de confiança
- IGRA:** Ensaio de liberação de interferon-gama
- IL:** Interleucina
- IQR:** Intervalo interquartil
- Kg:** Kilograma
- LASP:** Laboratório Avançado de Saúde Pública
- mg:** Miligrama
- MHC:** Complexo principal de histocompatibilidade
- mL:** Milímetro
- MS:** Ministério da Saúde
- MNT:** Micobactérias não tuberculosas
- NK:** *Natural killer*
- nm:** Nanômetro
- OMS:** Organização Mundial da Saúde

OR: *Odds ratio*

PAI: Programa Amplificado de Vacinação

PNCT: Programa Nacional de Controle da Tuberculose

PHA: Fitohemaglutinina

PPD: Derivado protéico purificado

QFT-IT: QuantiFERON-TB[®] Gold in Tube

RD1: Região de diferença 1

SBPT: Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tsiologia

SIDA: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SINAN: Sistema de Informação de Agravos e Notificação

TB: Tuberculose

TBL: Tuberculose latente

TB7.7: Antígeno TB7.7

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Th1: *T helper 1*

TNF: Fator de necrose tumoral

TT: Teste tuberculínico

UI: Unidade internacionais

UT: Unidade tuberculina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 HISTÓRIA E EPIDEMIOLOGIA	14
2.2 AGENTE ETIOLÓGICO	16
2.3 MODO DE TRANSMISSÃO DO BACILO	17
2.4 DETECÇÃO DA TUBERCULOSE LATENTE NOS COMUNICANTES DOMICILIARES	18
2.5 RESPOSTA IMUNE AO BACILO	18
2.6 CONTROLE DA DOENÇA	20
2.6.1 DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE LATENTE	20
2.6.2 TRATAMENTO DA TUBERCULOSE LATENTE	23
2.6.2.1 Isoniazida	24
2.6.2.2 Efeitos adversos	24
2.6.2.3 Monitoramento	25
3 JUSTIFICATIVA	26
4 OBJETIVOS	28
4.1 OBJETIVO GERAL	28
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
5 PACIENTES E MÉTODOS	29
5.1 DESENHO DO ESTUDO	29
5.2 LOCAL DO ESTUDO	29
5.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO	30
5.4 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	31
5.5 ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS A SEREM AVALIADOS	31
5.5.1 QUESTIONÁRIO E RADIOGRAFIA DO TÓRAX	31
5.5.2 ENSAIO DE LIBERAÇÃO DE INTERFERON-GAMA	32
5.5.3 TESTE CUTÂNEO TUBERCULÍNICO	33
5.6 COORTE	34
5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
6 RESULTADOS	36
AUMENTO DOS NÍVEIS DE IFN- γ APÓS O TRATAMENTO DA TUBERCULOSE LATENTE EM SALVADOR, BRASIL	36
7 DISCUSSÃO	51
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
9 LIMITAÇÕES	60
REFERÊNCIAS	62
APÊNDICE	
Apêndice 01 – ANÁLISE DA DISCORDÂNCIA ENTRE O TESTE TUBERCULÍNICO E O ENSAIO DE LIBERAÇÃO DE INTERFERON-GAMA	72
Apêndice 02 – FATORES DE RISCOS ASSOCIADOS A NÃO CONCLUSÃO DO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE LATENTE EM SALVADOR, BRASIL	81
ANEXOS	89
INFORMAÇÕES SOBRE O TESTE DIAGNÓSTICO QuantiFERON-TB [®] Gold in Tube	90
QUESTIONÁRIO DO PACIENTE ÍNDICE	91
QUESTIONÁRIO DO COMUNICANTES DOMICILIAR	95
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	97
PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	98

1 INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB), doença crônica infecciosa causada por *Mycobacterium tuberculosis*, é considerada um grave problema de saúde pública, constituindo uma das principais causas de morbi-mortalidade no país (DATASUS, 2011). A TB acomete cerca de 8 a 9 milhões de pessoas e é responsável por 2 a 3 milhões de mortes a cada ano no mundo (WHO, 2009).

Diante desta situação, a investigação dos comunicantes domiciliares de pacientes bacilíferos contribui para o controle da TB, seja de forma direta, por meio do diagnóstico precoce da tuberculose latente (TBL), seja indiretamente, por meio da prevenção de ocorrência de novos casos da doença ativa. Assim, a identificação e o tratamento dos indivíduos com TBL, ou seja, infectados, são medidas essenciais para o controle e eliminação da TB. Essas medidas visam, principalmente, reduzir o risco de reativação para a TB ativa (OMS, 2009). À medida que a TB ativa diminui, ocorre simultaneamente uma diminuição da TBL.

A investigação dos comunicantes domiciliares é recomendada pelo Programa Nacional de Controle da Tuberculose do Ministério da Saúde (PNCT-MS). No entanto, esta investigação não tem sido uma prioridade nos serviços públicos de saúde. Além disso, os recursos disponíveis para o diagnóstico da TBL no Brasil são falhos, o que dificulta a identificação e o tratamento precoce. Para eliminar as atuais limitações dos testes empregados e alcançar um diagnóstico mais precoce e preciso na TBL, novos testes têm sido desenvolvidos, a exemplo dos ensaios de liberação de interferon-gama (IGRAs) (ANDERSEN et al, 2000). A introdução dos IGRAs para uso de rotina em países de alta prevalência tem sido questionada, principalmente, devido ao grande número de resultados discordantes gerado entre os testes diagnósticos: IGRA e o teste tuberculínico (TT).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HISTÓRIA E EPIDEMIOLOGIA

Tuberculose é uma das mais antigas doenças infecciosas que acomete o ser humano. Há relatos dessa enfermidade em esqueletos, 8.000 a.C., na Alemanha. Também foram encontradas múmias egípcias, 3.000 a.C., com lesões na coluna vertebral, sugestivas de sequela de TB (DANIEL, 2006).

No início do século XVIII, durante a Revolução Industrial, TB tornou-se uma epidemia, como consequência do surgimento de cidades populosas e desorganizadas, associadas às péssimas condições de trabalho e à falta de higiene. Estes fatores contribuíram para a propagação da doença na Europa e posteriormente nas Américas e na África (DANIEL, 2006). No Brasil, a TB apareceu na época do descobrimento, trazida pelos colonizadores, jesuítas e escravos africanos. Os índios que adquiriam TB morriam rapidamente, e dessa forma muitas tribos indígenas foram dizimadas em curto espaço de tempo. Em decorrência do crescimento urbano e populacional ocorridos nos séculos posteriores, a doença tornou-se cada vez mais difícil de ser controlada, assumindo proporções endêmicas (HIJJAR et al, 2001).

Historicamente, somente a partir de 1940, com o aparecimento dos tuberculostáticos estabeleceu-se um conceito real de cura para a doença. Atualmente, o esquema básico para tratamento preconizado pela Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia (SBPT), consiste na administração de quatro drogas: rifampicina, pirazinamida, isoniazida (H) e etambutol, as quais diminuem drasticamente a mortalidade e reduzem o período de transmissibilidade (BRASIL, 2009). Dessa forma, as drogas terapêuticas, utilizadas em conjunto, constituem a ferramenta mais importante no controle da doença.

A descoberta de drogas eficazes contra a doença promoveu uma diminuição progressiva da TB. Os indicadores de saúde revelavam que a doença estava próxima de ser erradicada. No entanto, no início dos anos 80 a incidência voltou a subir vertiginosamente e, em consequência, as taxas de mortalidade e morbidade elevaram com igual rapidez (DANIEL, 2006). Esse fato ocorreu, principalmente, devido ao aparecimento de novas cepas de *M. tuberculosis* resistentes aos quimioterápicos utilizados no tratamento, as infecções concomitantes, como o vírus da imunodeficiência humana (HIV), além da ineficiência dos

programas de controle da doença e da deteriorização das condições socioeconômicas das populações (NORTH; JUNG, 2004; MAARTENS; WILKINSON, 2007).

Atualmente, a TB ainda permanece como um dos mais sérios problemas de saúde pública no mundo (Figura 2.1). A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que um terço da população mundial esteja infectada pelo bacilo, cerca de 8 a 9 milhões de pessoas tem a doença sintomática e, 2 a 3 milhões morrem a cada ano. O Brasil ocupa o 19º lugar entre os 22 países responsáveis por 80% do total de número de casos de TB no mundo. Além disso, o país possui o maior número de casos registrados de TB na América do Sul, com uma prevalência estimada em 55 casos por 100.000 habitantes (OMS, 2009).

Segundo o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), no Estado da Bahia foram detectados 7.342 casos confirmados de TB em 2009, o que confere ao Estado o primeiro lugar do Nordeste em número de casos. Dentre os casos confirmados, Salvador apresentou 3.265 casos (DATASUS, 2011).

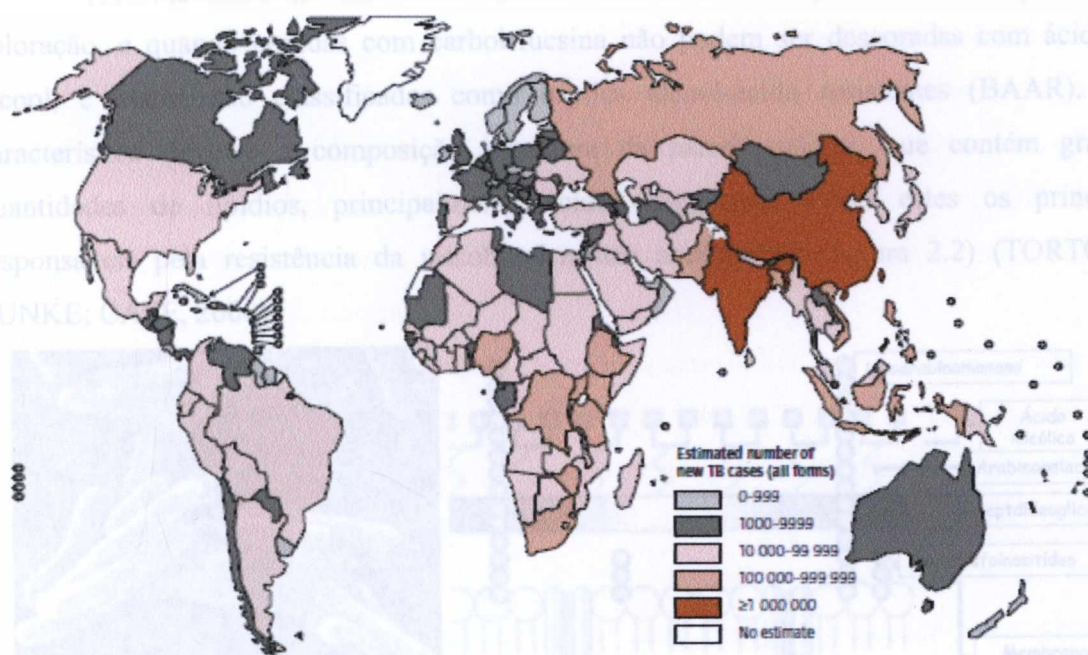


Figura 2.1 Número de novos casos de tuberculose registrados no mundo durante o ano de 2007. Fonte: OMS, 2009.

2.2 AGENTE ETIOLÓGICO

O gênero *Mycobacterium* é o único da família Mycobacteriaceae, o qual é constituído pelo complexo *M. tuberculosis* e mais de 80 espécies de micobactérias atípicas, incluindo espécies patogênicas, oportunistas e não patogênicas (SOINI; MUSSER, 2001). O complexo *M. tuberculosis* inclui as espécies: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, a cepa vacinal *M. bovis* BCG (Bacilo Calmette-Guérin) e *M. africanum* (SOINI; MUSSER, 2001).

A espécie *M. tuberculosis* é um bacilo delgado, aeróbico obrigatório, não formador de esporos, sem flagelos, com dimensões de 0,2 a 0,7 x 1,0 a 10 μm . Não produz toxinas e é intracelular facultativo (TORTORA; FUNKE; CASE, 2000). A capacidade de invadir e disseminar-se pelo corpo humano está, principalmente, associada a esta habilidade do bacilo em sobreviver e proliferar no interior de fagócitos mononucleares (NORTH; JUNG, 2004).

As micobactérias são relativamente resistentes aos procedimentos padrão de coloração, e quando coradas com carbol-fucsina não podem ser descoradas com ácido ou álcool, e assim, são classificadas como bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR). Esta característica deve-se a composição incomum da parede celular, que contém grandes quantidades de lipídios, principalmente ácidos micólicos, sendo estes os principais responsáveis pela resistência da micobactéria aos antibióticos (Figura 2.2) (TORTORA; FUNKE; CASE, 2000).

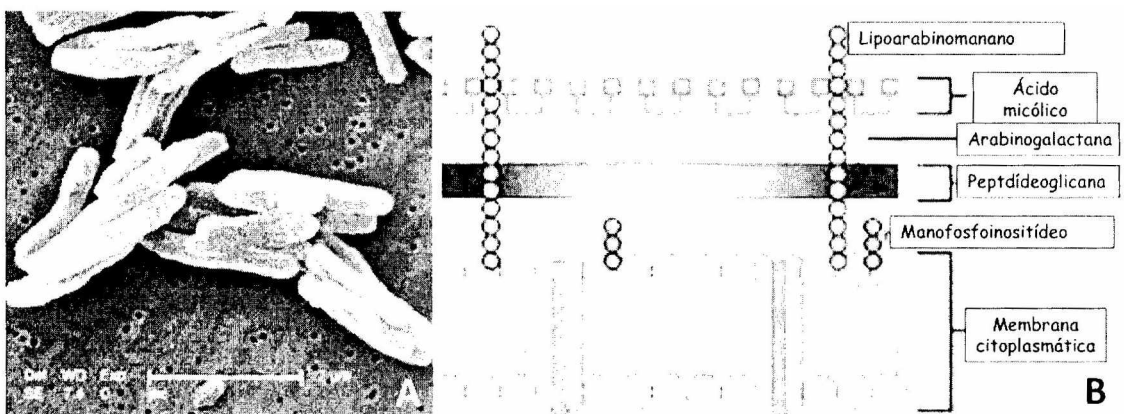


Figura 2.2 Micrografia eletrônica do *Mycobacterium tuberculosis* (A). Principais constituintes da parede celular do gênero *Mycobacterium* demonstrado esquematicamente (B).

Fonte: <http://www.allamericanpatriots.com/photos/mycobacterium-tuberculosis-bacterium-causes-tb-inf>.

2.3 MODO DE TRANSMISSÃO DO BACILO

Para o entendimento da patogênese da TB doença, é necessário o entendimento da distinção entre os termos infecção e doença. De acordo com a *American Thoracic Society* (ATS, 2000), classifica-se um indivíduo com TBL quando este apresenta resultado do TT positivo, baciloscopia do escarro negativa, se realizada, e não apresenta nenhuma evidência clínica ou radiográfica da TB ativa. A transição do estado de latência para a doença ativa pode ocorrer logo após o contágio (TB primária), alguns anos após, através da reativação endógena de uma TBL, ou através de uma reinfecção exógena (TB pós-primária) (PARRISH et al, 1998).

A transmissão da TB é quase que exclusivamente pelas vias aéreas. Através do espirro, da fala e principalmente da tosse de um paciente bacilífero são eliminadas gotículas, de tamanhos variados, contendo os bacilos. As gotículas mais pesadas se depositam rapidamente e as mais leves permanecem no ar em suspensão. Somente o núcleo seco das gotículas, denominado de núcleo de Wells, com diâmetro menor que 5μ e contendo de 1 a 3 bacilos, conseguem atingir os bronquíolos, e aí iniciar a sua multiplicação. Um paciente bacilífero produz 250 núcleos de Wells por hora, aproximadamente. Portanto, estima-se que seja necessária uma exposição à cerca de 25.000 núcleos de Wells, aproximadamente 100 horas, para que o contágio ocorra (KRITSKI et al, 2000).

A história natural mostra que 10 a 30% dos indivíduos expostos a uma fonte bacilífera desenvolvem TBL, e em 5 a 10% destes indivíduos a infecção progride, transformando-se em TB ativa, sendo que o risco de adoecimento é maior nos dois primeiros anos após a infecção (NORTH; JUNG, 2004). Indivíduos com TBL representam potenciais reservatórios de *M. tuberculosis* (OMS, 2009). Uma das maiores dificuldades para o controle da TB é que sem a eliminação da TBL não se pode controlar a doença ativa, portanto a detecção precoce e o tratamento dos indivíduos infectados são estratégias fundamentais para controle da TB. No entanto, identificar com precisão aqueles que estão infectados é difícil, uma vez que são assintomáticos.

2.4 DETECÇÃO DA TUBERCULOSE LATENTE NOS COMUNICANTES DOMICILIARES

Dentre os indivíduos com TBL, comunicantes domiciliares de pacientes com TB pulmonar recém diagnosticados, são os mais susceptíveis e facilmente identificados como grupo de alto risco (ATS, 2000). Quanto mais íntima e prolongada a convivência, maior será a exposição a fonte bacilífera (paciente índice) e, conseqüentemente, maior a possibilidade de transmissão.

Dessa forma, a investigação dos comunicantes mais próximos é a estratégias mais efetiva para aumentar a detecção de casos e reduzir custos futuros com o tratamento. Assim, a detecção de novas fontes de infecção, possibilita a identificação de pacientes em estágio inicial, quando ainda são pouco infectantes (SASS, 1996).

O risco dos comunicantes domiciliares adquirir a doença ou a infecção é bastante elevado. Segundo Lemos *et al.* (2004) a prevalência da TBL entre comunicantes de pacientes com TB em Salvador, no primeiro ano do estudo, foi de aproximadamente 64%. Um estudo feito por Machado *et al.* (2009), no mesmo local, aproximadamente 56% dos comunicantes estavam infectados pelo *M. tuberculosis*. No Rio de Janeiro, a prevalência da TBL foi estimada em 46% entre os comunicantes domiciliares (CARVALHO *et al.*, 1996). Dessa forma, a avaliação de comunicantes é imprescindível, sobretudo pelo risco de microepidemias em domicílios e na comunidade, se o controle efetivo não for realizado.

2.5 RESPOSTA IMUNE AO BACILO

Após a entrada do bacilo nos pulmões do hospedeiro, eles são fagocitados por macrófagos alveolares. Embora, muitos bacilos sejam destruídos, teoricamente, neste momento, um grande número destes conseguem sobreviver no interior do fagossoma do macrófago através da inibição da acidificação fagossomal. Uma vez no interior do fagossoma, antígenos bacterianos podem ser processados e então apresentados via MHC classe I e II aos linfócitos T $CD8^+$ e $CD4^+$ respectivamente, em resposta à infecção (HENDERSON; WATKINS; FLYNN, 1997). Aparentemente o controle imunológico deve-se predominantemente às células Th1 $CD4^+$. Macrófagos e células dendríticas produzem IL-12 após a fagocitose do bacilo, esta citocina induz o desenvolvimento da resposta Th1 que resulta

na produção de interferon-gama (IFN- γ), que é a citocina crucial para o controle da infecção (HENDERSON; WATKINS; FLYNN, 1997; LADEL et al, 1997).

Na TB, o IFN- γ é produzido por linfócitos T CD4⁺, linfócitos T CD8⁺, células *natural killers* (NK) e macrófagos (BARNES et al, 1993). O papel fundamental desta citocina na resposta imune ao *M. tuberculosis* foi demonstrado em vários trabalhos (FLYNN et al, 1993; NEWPORT et al, 1996). Cooper *et al.* (1993) demonstraram que camundongos *knouckts* para o gene do IFN- γ são altamente susceptíveis à infecção por *M. tuberculosis*. O mesmo foi observado em indivíduos com deficiência nos genes do IFN- γ ou do seu receptor, os quais são mais susceptíveis às infecções micobacterianas (JOUANGUY et al, 1996). A principal função do IFN- γ é ativar macrófagos infectados, e dessa maneira, induzir atividade microbicida, através da produção de reativos de oxigênio e nitrogênio capazes de eliminar o bacilo (CHAN; CHAN; SCHLUGER, 2001).

No tecido, a imunidade mediada por células resulta na formação do granuloma, o qual é essencial para conter a infecção tuberculosa, já que o mesmo funciona como uma barreira, envolta de tecido conjuntivo, delimitando o sítio de infecção (TUFARIELLO; CHAN; FLYNN, 2003). O granuloma se caracteriza por um acúmulo focal de macrófagos infectados ou não, células gigantes multinucleadas e células epitelióides, comumente envoltos por um halo de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺. A presença de granuloma no pulmão, associados ao acometimento dos gânglios linfáticos localizados no hilo pulmonar, formam o Complexo de Ghon, caracterizando radiologicamente e patologicamente a primo-infecção tuberculosa. Granulomas resultam da contínua estimulação antigênica dos linfócitos que se aglomeram, mas que não são eficazes na eliminação dos bacilos. A persistência de bacilos vivos ou fragmentos de bacilos provavelmente mantém a resposta inflamatória tecidual granulomatosa (MARIANO, 1995). Por vezes, no centro do granuloma, surge à necrose caseosa. Esta necrose resulta em destruição tecidual irreversível, sendo responsável pela formação de cavernas. Além disso, o dano tissular por necrose também permite que bacilos sejam liberados para o ar, pois fragmentos do tecido necrótico são eliminados com a tosse, resultando na transmissão e infecção de indivíduos sadios, e assim, perpetuando a doença (FLORIDO; COOPER; APPELBERG, 2002).

O IFN- γ também estimula a produção do fator de necrose tumoral (TNF) pelos macrófagos, citocina importante para a formação do granuloma e para o controle da extensão da infecção (FLYNN et al, 1995; ROACH et al, 2002). Camundongos *knouckts* para o gene TNF ou com deficiência do receptor desta citocina, desafiados com *M. tuberculosis*, são

incapazes de formar granulomas, sugerindo que esta citocina é essencial para a sua formação (FLYNN; CHAN, 2001). Além disso, observa-se que em pacientes com artrite reumatóide tratados com anti-TNF reativam a latência e desenvolvem a TB ativa (KEANNE et al, 2001; ROACH et al, 2002).

A latência clínica nos indivíduos com TBL, caracterizada pela falta de sinais e sintomas, representa um equilíbrio entre a sobrevivência do bacilo intracelular e a resposta imune do hospedeiro (TUFARIELLO et al, 2003). Vários mecanismos envolvidos na defesa imunológica contra o *M. tuberculosis* contribuem para essa latência. O resultado da interação entre estes mecanismos e fatores de virulência do bacilo determina se a TBL assintomática ou a TB ativa ocorrerá. Entre os fatores de risco para o desenvolvimento da doença estão a infecção pelo vírus HIV, desnutrição, diabetes mellitus e uso de drogas imunossupressoras. Outras condições de natureza genética, por exemplo, deficiências imunológicas ou doenças relacionadas com o sistema MHC, podem também tornar indivíduos mais susceptíveis ao desenvolvimento da doença ativa (RIEDER et al, 1989).

2.6 CONTROLE DA DOENÇA

O controle da TB está associado ao diagnóstico precoce da doença e da infecção, bem como do tratamento efetivo para prevenir a progressão dos indivíduos com TBL para a doença ativa (OMS, 2009).

2.6.1 DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE LATENTE

Atualmente, o diagnóstico da TBL depende da história de contato com adulto bacilífero, aliados a dados clínicos, radiológicos e do resultado do TT. Embora a radiografia do tórax seja uma importante ferramenta auxiliar no diagnóstico, a análise radiológica não é, entretanto, um exame específico. As anormalidades detectadas podem sugerir, mas nunca afirmar o diagnóstico de infecção ou doença (BURRIL et al, 2007). Nódulos e cicatrizes fibróticas podem conter os bacilos da TB em multiplicação lenta, com potencial para

progredirem para TB ativa. Indivíduos com estas características em seus exames, associados ao TT positivo, devem ser considerados candidatos de alta prioridade ao tratamento da TBL, independente da idade. De modo oposto, lesões granulares calcificadas (granulomas calcificados) na radiografia do tórax apresentam baixíssimo risco de progressão para TB ativa (BURRIL et al, 2007).

Devido ao baixo custo, o TT é o único método diagnóstico atualmente empregado e recomendado no Brasil para diagnosticar indivíduos infectados. O TT avalia a hipersensibilidade tardia em resposta ao derivado protéico purificado (PPD). O PPD é uma mistura de antígenos micobacterianos, alguns dos quais são compartilhados tanto por micobactérias não tuberculosas (MNT) quanto por cepas vacinais de *Mycobacterium bovis* (BCG) (ANDERSEN et al, 2000; LEE et al, 2002). Portanto, o TT não é recomendado em populações com alta cobertura vacinal com BCG e/ou populações com alto nível de exposição à MNT (ANDERSEN et al, 2000; MAZUREK et al, 2001; LEE et al, 2002, PAI et al, 2004). A reação cruzada de hipersensibilidade cutânea ao PPD que ocorre entre a vacina BCG e a infecção invalida o uso do TT em alguns indivíduos, principalmente porque a vacina é amplamente empregada no Brasil, como parte do Programa Ampliado de Vacinação (PAI). A OMS recomenda uma única dose intradérmica da vacina para todos os recém-nascidos que vivem em países com elevada prevalência de TB ativa (OMS, 2009).

O diâmetro da reação ao PPD é usado para classificar os indivíduos de acordo com a probabilidade de ter ou não a infecção. Por ser mensurado em uma escala contínua, o TT não pode indicar a presença ou a ausência da infecção. Deste modo, foram estabelecidos critérios, usando ponto de corte, acima do qual o TT é considerado positivo, ou seja, indica TBL (CDC, 2000). Os critérios utilizados para definir o ponto de corte irão depender da sensibilidade e especificidade do TT, bem como da prevalência nos diferentes grupos de risco. Para aqueles com maior probabilidade de ter infecção, devido a constante exposição a um paciente bacilífero, a exemplo dos comunicantes domiciliares, uma endureção ≥ 10 mm em resposta ao TT é considerada positiva (BRASIL, 2004).

Diversas circunstâncias podem interferir na hipersensibilidade e resultar em falso-negativos, como as drogas e doenças imunossupressoras, tratamentos com corticosteróides, gravidez, crianças menores de dois anos e idosos acima de 65 anos. Além disso, a variabilidade de leitura entre os observadores, a necessidade de pessoal treinado e a dificuldade no retorno do paciente para a leitura da endureção cutânea, tornam ainda mais complicada a utilização do TT como teste de triagem (PAI et al, 2005).

A identificação de regiões do genoma do *M. tuberculosis*, que estão ausentes nas cepas vacinais do *M. bovis* e em outras MNT, permitiu o desenvolvimento de novos marcadores diagnósticos para a TBL baseados na liberação de IFN- γ (*Interferon-gamma release assays* - IGRAs) em resposta a antígenos presentes no *M. tuberculosis* (ANDERSEN et al, 2000). Esses testes resultaram da observação de que a infecção pela micobactéria induz forte resposta imune celular tipo Th1. Eles foram desenvolvidos com o objetivo de substituir o TT no diagnóstico de infecção pelo *M. tuberculosis* e, portanto, não induzem reação cruzada como ocorre no TT. Em particular, o antígeno alvo precoce de secreção primária com peso molecular de 6kD (do inglês *early-secreted antigenic target*, ESAT-6), a proteína do filtrado de cultura com peso molecular de 10kD (do inglês *culture filtrate protein*, CFP-10) – homóloga a proteína I.45, codificadas na Região de Diferença 1 (RD1), têm sido utilizadas nos IGRAs. Estas proteínas, ESAT-6 e CFP-10, estão presentes apenas em *Mycobacterium tuberculosis*, *M. africanum* e *M. bovis* não-BCG (Complexo *M. tuberculosis*) e em algumas micobactérias do meio ambiente: *M. kansasii*, *M. marinum* e *M. szulgai*, estando ausente na vacina *M. bovis* Bacilo Calmette-Guérin (BCG) e nas demais MNT (PAI; RILEY; COLFORD, 2004; MORI et al, 2004).

Atualmente, existem dois testes disponíveis comercialmente e similares que se baseiam na produção de IFN- γ : o QuantiFERON-TB[®] e o T SPOT.TB[®]. O primeiro a ser aprovado foi o QuantiFERON-TB[®] em 2001, pela agência regulatória americana *Food and Drug Administration* (FDA), o qual utilizava como antígeno principal o PPD, para estimular a cultura de células. Logo constatou-se a baixa especificidade, já que esse ensaio apresentava os mesmos problemas do teste cutâneo com o PPD (ANDERSEN et al, 2000). Posteriormente, o QuantiFERON-TB[®] foi substituído pelo QuantiFERON-TB[®] Gold, o qual utilizava as proteínas recombinantes ESAT-6 e CFP-10, em substituição ao PPD. Esse novo teste, que foi aprovado pelo FDA em 2004 para diagnóstico da TBL, apresenta como vantagens alta sensibilidade e especificidade (MAZUREK et al, 2001; PALAZZO et al, 2008). Um outra geração mais recente do QuantiFERON, o QuantiFERON-TB[®] Gold in Tube (QFT-IT), quantifica a produção de IFN- γ produzido por linfócitos previamente sensibilizados em resposta aos antígenos específicos ESAT-6, CFP-10 e ainda um peptídeo da porção do antígeno TB7.7. Por fim, a quantificação do IFN- γ é avaliada por meio de um ensaio imunoenzimático, ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*).

O T SPOT.TB[®] (Oxford Immunotec, Oxon, UK) é um ensaio de ELISPOT (*Enzyme Linked Immunospot Assay*), que quantifica o número de células mononucleares periféricas

produtoras de IFN- γ em resposta à estimulação do sangue periférico com ESAT-6 e CFP-10 (ANDERSEN et al, 2000). Uma recente meta-análise concluiu que os IGRAs comercialmente disponíveis, possuem especificidade elevada em comparação ao TT para diagnosticar a TBL, além disso, não são afetados pela vacinação BCG (PAI; ZWERLING; MENZIES, 2008).

2.6.2 TRATAMENTO DA TUBERCULOSE LATENTE

O tratamento é umas das medidas terapêuticas para prevenir o adoecimento, em indivíduos com TBL e com risco aumentado de evoluir para doença. No entanto, a probabilidade da infecção evoluir para doença TB depende de vários fatores, muitos dos quais estão relacionados ao próprio indivíduo. Considerando os riscos potenciais de desenvolver a doença, mesmo com possíveis reações tóxicas da H, os efeitos sociais benéficos da prevenção, evitando a instalação de novos focos da doença contribuem para a terapêutica preventiva (BRASIL, 2009).

No Brasil, o TT é utilizado como método diagnóstico auxiliar para a indicação do tratamento preventivo com H. O tratamento profilático consiste na administração de H na dosagem de 5mg/Kg/dia (até 300 mg), por um período de 6 meses para evitar o desenvolvimento da doença em indivíduos infectados – tratamento secundário (BRASIL, 2004).

Uma vez que a incidência de TB é elevada nos comunicantes domiciliares, crianças e imunossuprimidos, independente do tamanho da reação ao PPD, o tratamento profilático por alguns meses reduz significativamente, estimado em 75% (WHALEN, 2005), o risco de progressão para a doença nas pessoas infectadas, com uma medida sumarizada, estimada através de metanálise, de 60% (SMIEJA et al, 2000). Dessa forma, o tratamento da TBL torna-se parte fundamental na estratégia de controle da doença.

2.6.2.1 Isoniazida (H)

Isoniazida é uma hidrazida do ácido isonicotínico, descoberta em 1945 (MANDEL; PETRI, 1996). Sua fórmula química é $C_6H_7N_3O$, possui peso molecular de 137,14 g/mol, sua nomenclatura oficial é 4-hidrazida ácida piridincarboxilica (Figura 2.3).

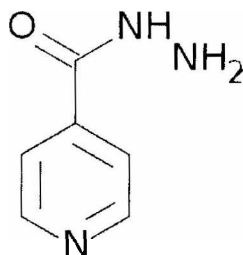


Figura 2.3. Estrutura química da isoniazida.

A atividade antibacteriana da H limita-se as micobactérias, sendo bacteriostático para microorganismos em repouso e bactericida para as bactérias em divisão (RANG; DALE; RITTER, 2001). Entretanto, o mecanismo de ação da droga não está totalmente esclarecido. Há evidências de que o fármaco inibe a síntese de ácido micólico, importante componente da parede celular (Figura 2.2), peculiar às micobactérias, o que explicaria sua elevada seletividade sobre este tipo de bactérias (TAKAYAMA et al, 1975).

2.6.2.2 Efeitos adversos

Apesar da H ser um medicamento bem tolerado, pode causar efeitos adversos durante o uso deste fármaco; as reações mais frequentes são: náuseas, vômitos, exantema cutâneo, febre, icterícia e neurite periférica. O risco de desenvolver hepatite associada ao uso da H é de apenas 0,3%. Entretanto, a incidência da hepatite aumenta com a idade, de 0,3% nos indivíduos abaixo de 35 anos, eleva-se para 1,2% até os 49 anos e para 2,3% acima de 50 anos (LOBUE; MOSER, 2003).

2.6.2.3 Monitoramento

O objetivo do tratamento da TBL é eliminar o bacilo. Para garantir que esse objetivo seja alcançado, o paciente deverá ser acompanhado ao longo da vida, o que é claramente inviável no âmbito de um ensaio clínico. Não existe atualmente nenhum método diagnóstico que permita monitorar o tratamento da infecção. No entanto, a capacidade dos IGRAs em monitorar o tratamento da TB e da TBL está sob investigação.

Estudos têm demonstrado que os níveis de IFN- γ secretados por linfócitos após estimulação *in vitro* com antígenos específicos do *M. tuberculosis* diminuem em pacientes tratados com esquemas multidroga para TB ativa (KOBASHI et al, 2009; AIKEN et al, 2006; SAUZULLO et al, 2009). Apesar da consistência desses resultados, alguns autores concluíram que o IGRA não pode ser útil para monitorar o esquema multidroga da TB por causa da alta variabilidade inter-sujeitos e pelo fato da reversão do teste ser rara (BOSSHARD et al, 2009; RIBEIRO et al, 2009).

Ao contrário do que tem sido observado em pacientes tratados para a TB ativa, estudos anteriores sobre a resposta das células T antes e após o tratamento para a TBL tem mostrado resultados discordantes. Um estudo feito no Japão concluiu que os níveis de IFN- γ produzidos por linfócitos diminuíram após o tratamento da TBL, embora o resultado do IGRA comercial não tenha revertido o resultado do teste para negativo (HIGUSHI et al, 2008). Outro estudo, entre trabalhadores da área de saúde na Índia, relatou que os níveis de IFN- γ permaneceram elevados mesmo após o tratamento (PAI et al, 2006). Em Cingapura, um estudo constatou que o tratamento teve um efeito diferenciado sobre a resposta de células T, que é dependente do antígeno RD1 que as células T são expostas (CHEE et al, 2009). Dessa forma, não está claro se a quantidade de IFN- γ liberada pelas células T estimuladas com os antígenos específicos do *M. tuberculosis* em IGRAs comerciais seguem um padrão específico após a conclusão do tratamento para a TBL. Além disso, não se sabe se as respostas específicas de células T após o tratamento são diferentes em ambientes onde a transmissão do bacilo é baixa em comparação onde a transmissão é elevada (CARRARA et al, 2004; LALVANI et al, 2004; PAI et al, 2006; WILKINSON et al, 2006; CHEE et al, 2009). Portanto é contraditório o papel do uso do IGRA no acompanhamento do tratamento da infecção.

3 JUSTIFICATIVA

Um terço da população mundial está infectada pelo *M. tuberculosis*. A identificação e o tratamento dos indivíduos com TBL são medidas essenciais para o controle e eliminação da TB na população brasileira. Essas medidas visam reduzir o risco de reativação para a TB ativa nos indivíduos infectados (OMS, 2009). À medida que o número de casos de TB ativa diminui, ocorre conseqüentemente uma diminuição da TBL. Os recursos disponíveis para o diagnóstico da TBL no Brasil são falhos, o que dificulta a identificação e o tratamento precoce. O diagnóstico precoce é muito importante para o início do tratamento, porém deve ser o mais acurado possível, para evitar tratamentos desnecessários, com os riscos potenciais de efeitos adversos.

Para diminuir ou eliminar as limitações dos atuais testes empregados e obter um diagnóstico mais precoce e preciso, em termos de sensibilidade e especificidade, novos testes têm sido desenvolvidos. Dentre eles, os IGRAs têm se mostrado bons testes diagnósticos da TBL em populações com baixa cobertura vacinal (BROCK et al, 2004; KANG et al, 2005; DOMINGUEZ et al, 2008). Desde a sua introdução no mercado, um grande número de estudos publicados que avaliam a utilização deste teste no diagnóstico da TBL vem aumentando consideravelmente. Em 2008, Pai *et al.* demonstraram, através de uma metá-análise, que ao comparar o desempenho do IGRA com o TT, o IGRA apresentou alta especificidade, podendo variar de 60 a 80% (PAI et al, 2008). Dessa forma, uma parte substancial dos resultados do teste são, portanto, discordantes. Quando um indivíduo tem um TT positivo e um resultado IGRA negativo, a discordância é muitas vezes atribuída à vacinação por BCG. Entretanto, há poucas evidências na literatura que apoiem a vacina BCG como justificativa para a discordância entre os testes.

Esta é uma importante questão para saúde pública, pois uma das estratégias do PNCT é buscar ativamente comunicantes intra-domiciliares de pacientes com TB pulmonar. Assim, ter um bom indicador de TBL nos comunicantes é imprescindível, porque uma vez infectados, eles apresentam um alto risco de progressão para a TB ativa (BEYERS et al, 1997). Além disso, a decisão de quando iniciar o tratamento dos comunicantes infectados dependerá, principalmente, da precisão desses testes. Essa decisão é indicada para comunicantes que apresentam resultado TT positivo, mas não esclarece o que deve ser feito para aqueles comunicantes com TT positivo concomitante ao resultado IGRA negativo.

As informações relacionadas com a viabilidade, a aderência e a aceitabilidade ao longo do tratamento da TBL são limitadas na maioria dos países endêmicos. O PNCT recomenda um tratamento de seis meses para todos os comunicantes que apresentem uma reação ≥ 10 mm de endureção cutânea (BRASIL, 2004). No entanto, essas recomendações não são amplamente seguidas. A fraca adesão à medicação induz um aumento de cepas resistentes à H, principal droga utilizada no tratamento da TB (BRASIL, 2009). Associada à fraca adesão, não existem marcadores biológicos que possam avaliar a resposta terapêutica e cura da TBL. Para garantir que o tratamento elimine o bacilo, o paciente deverá ser acompanhado ao longo da vida, o que é claramente inviável no âmbito de um ensaio clínico.

Neste trabalho estudamos os comunicantes domiciliares de pacientes com TB pulmonar, com o objetivo de avaliar os fatores associados com os resultados discordantes dos dois testes diagnósticos, observar o que acontece com este grupo de alto risco em um cenário endêmico da TB quando lhes é oferecido tratamento para a infecção e a capacidade do IGRA em monitorar o tratamento.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

- Comparar os níveis de IFN- γ antes e após seis meses de tratamento com isoniazida nos comunicantes domiciliares de pacientes com tuberculose pulmonar.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar os fatores associados aos resultados discordantes entre o teste tuberculínico e o ensaio de liberação de interferon-gama (Apêndice 01).
- Determinar a prevalência da tuberculose latente (Apêndice 01);
- Comparar o desempenho do ensaio de liberação de interferon-gama com o do teste tuberculínico (Apêndice 01);
- Avaliar a prática e a adesão ao tratamento dos comunicantes infectados (Apêndice 02);

5 PACIENTES E MÉTODOS

5.1 DESENHO DO ESTUDO

O período desse estudo compreendeu de 2007 a 2011. Inicialmente foi feita a identificação e recrutamento dos comunicantes domiciliares de pacientes com TB pulmonar - tempo zero (T_0), após o contato com o paciente índice. E seis meses após o tratamento dos indivíduos infectados com o bacilo - tempo um (T_1).

No T_0 foi realizado um estudo transversal com o objetivo de avaliar a prevalência da TBL nesta população, comparar e analisar os fatores associados aos resultados TT e IGRA positivos, bem como os fatores associados com a discordância entre os testes. Dessa forma, comunicantes domiciliares de pacientes com TB pulmonar recém diagnosticados, que consentiram em participar do estudo responderam a um questionário específico. Em seguida, os voluntários foram submetidos à radiografia do tórax, aplicação do TT e coleta de sangue para a realização do IGRA. O TT foi utilizado como método diagnóstico para a indicação do tratamento, como preconizado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2004). Esta coorte de indivíduos foi acompanhada durante seis meses. Após esse período os voluntários foram novamente submetidos à radiografia do tórax e a coleta de sangue para a realização do IGRA, T_1 (Figura 3.1).

5.2 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi realizado no Hospital Especializado Octávio Mangabeira (HEOM) em Salvador, Bahia. O HEOM pertence à rede pública de saúde do Estado da Bahia. Neste hospital são atendidos anualmente, em média, 1142 pacientes novos com TB pulmonar, cerca de 80% destes com baciloscopia do escarro positiva.

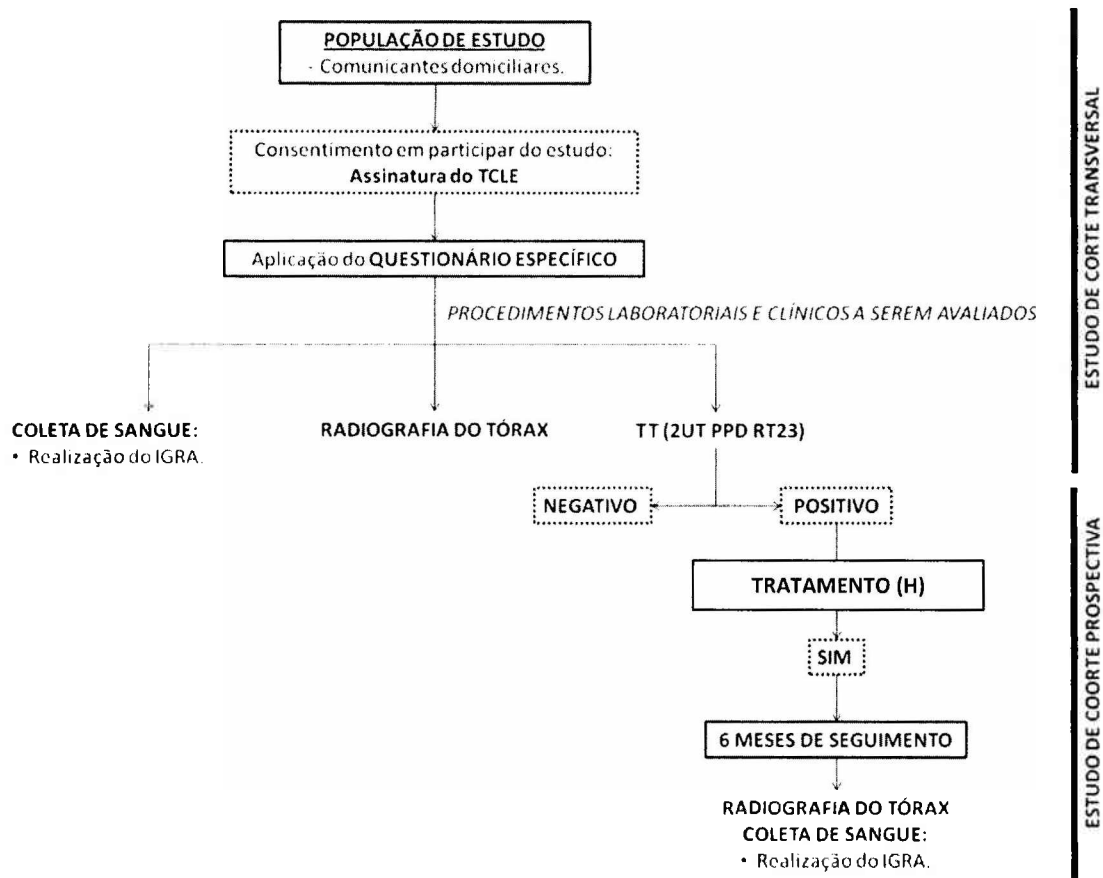


Figura 5.1 Desenho experimental do estudo. IGRA: *interferon-gamma release assay*; TT = teste tuberculínico; TCLE = termo de consentimento livre e esclarecido. Fonte: Do próprio autor.

5.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO

Paciente índice. Paciente índice foi definido como paciente hospitalizado com sintomas compatíveis com a TB ativa, associado a um ou mais de um dos seguintes achados: 1) radiografia de tórax sugestiva de TB, 2) baciloscopia do escarro positivo, 3) indivíduos que responderam ao tratamento com as drogas anti-tuberculosas. A radiografia do tórax foi classificada como: 1) lesão cavitária, quando observou-se infiltração pulmonar com cavitação; 2) não cavitária, quando observou-se o infiltrado pulmonar sem cavidade, ou 3) normal, quando não se observou nenhuma lesão pulmonar. O escarro foi analisado utilizando o método de coloração de Ziehl-Neelsen e classificados como: negativo, 1+, 2+ ou 3+.

Comunicantes domiciliares. Foram considerados comunicantes domiciliares todos aqueles que conviviam no mesmo domicílio, ou que, pelos menos, relatassem 100 horas de contato com o paciente índice. Os critérios de exclusão foram: 1) voluntários que relatassem

história progressiva de TB, 2) Comunicantes infectados pelo vírus HIV.

5.4 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (CEP-CPqGM/FIOCRUZ), com o registro número 193, conforme o parecer número 181/2008. Seguindo a Resolução 196/96 do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), todos os indivíduos envolvidos foram informados sobre os procedimentos, o objetivo da pesquisa e sua importância para a comunidade. A participação dos comunicantes foi totalmente voluntária e confidencial. Os voluntários receberam uma explicação verbal detalhada sobre o estudo, e ao aceitarem participar do estudo, assinaram e receberam uma cópia do TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – modelo em anexo). Para aqueles que tinham menos de 18 anos no momento de ingresso no estudo, o TCLE foi assinado pelo responsável legal da criança.

5.5 ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS AVALIADOS

5.5.1 QUESTIONÁRIO E RADIOGRAFIA DO TÓRAX

Após a assinatura do TCLE, os voluntários responderam um breve questionário, o qual foi testado e ajustado previamente para esta população. O questionário foi criado com o objetivo de avaliar dados demográficos, idade, gênero, contatos prévios com pacientes TB, exposição ao paciente índice no domicílio, histórico médico, estado imunológico, fatores de risco para TBL e vacinação prévia com BCG.

Em seguida, todos os voluntários foram submetidos à radiografia do tórax. A avaliação do resultado radiográfico foi realizada por um único observador, sendo discriminada neste estudo como: normal ou com evidência de cicatriz.

5.5.2 ENSAIO DE LIBERAÇÃO DE INTERFERON-GAMA (IGRA)

Para a avaliação dos níveis de IFN- γ foi utilizado o kit comercial QFT-IT (Cellestis, Inc., Carnegie, Austrália), o qual quantifica a produção de IFN- γ produzido por células T em resposta à estimulação pelos antígenos específicos do *M. tuberculosis* em culturas de sangue total.

Na primeira etapa foram coletados três mL de sangue, um mL para cada um dos três tubos a vácuo fornecidos com o kit: um tubo contendo uma mistura de antígenos, ESAT-6, CFP-10 e TB7.7, um tubo contendo fitohemaglutinina (PHA), que consiste no controle positivo do teste, e um tubo sem estímulos, que consiste no controle negativo. Todas as etapas para realização do teste seguiram as recomendações do fabricante e são descritas resumidamente a seguir.

Após a coleta do material, o sangue total foi enviado ao Laboratório Avançado de Saúde Pública (LASP) no Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz (CPqGM/FIOCRUZ), onde foram realizados todos os procedimentos laboratoriais. O sangue foi incubado à 37 °C por 16-24 horas e em seguida os tubos foram centrifugados. Os sobrenadantes foram coletados e armazenados à -70 °C, até a determinação dos níveis de IFN- γ .

Na segunda etapa foi realizado um ensaio imunoenzimático, ELISA do tipo sanduíche, para determinar os níveis de IFN- γ . Um padrão constituído pela citocina recombinante foi diluído seriadamente em três concentrações, 4, 1 e 0,25 UI/mL em triplicatas, de forma que cada placa continha a própria curva padrão. Além disso, três poços denominados de brancos, contendo apenas o diluente da amostra, foram incluídos em cada placa como controle negativo da reação. As amostras foram diluídas nos demais poços da placa. As placas foram tratadas com anticorpo de detecção conjugado a peroxidase, substrato e solução de parada da reação. Os valores de densidade óptica foram lidos em espectrofotômetro, a um comprimento de onda de 450 nm. Estes valores foram usados para calcular os resultados do teste, com auxílio de um software específico do kit, QuantiFERON-TB[®] Gold in Tube Analysis Software (Versão 2.13). De acordo com dados anteriores de validação deste ensaio, um valor igual ou acima de 0,35 UI/mL de IFN- γ em resposta aos antígenos específicos foi considerado positivo. Um valor abaixo ou igual a 0,5 UI/mL de IFN- γ em resposta ao mitógeno foi definido como indeterminado. Os voluntários que apresentaram este resultado foram excluídos das análises.

5.5.3 TESTE TUBERCULÍNICO

Após a coleta do sangue, foi feita a inoculação de 0,1 mL (2UT) do PPD RT23 (Statens Serum Institut, Copenhagen, Dinamarca), utilizando-se a técnica de Mantoux, no terço médio do antebraço esquerdo, com seringa tipo tuberculina de 1 mL (Figura 5.2), por pessoal treinado segundo as normas do Ministério da Saúde.

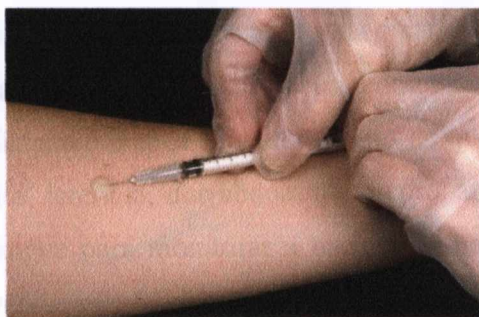


Figura 5.2 Técnica de inoculação do PPD.
Fonte: <http://www.clinicalcorrelations.org>.

A mensuração do resultado do TT foi realizada 72 horas após a aplicação, pelo método de palpação do diâmetro transverso máximo da endureção. A resposta ao PPD foi classificada da seguinte forma: < 10 mm, negativo; ≥ 10 mm, positivo, sugestivo de TBL. Este critério foi estabelecido de acordo com a SBPT-MS (BRASIL, 2004).



Figura 5.3 Leitura do PPD pelo método de palpação do diâmetro transverso máximo de endureção. PPD = derivado protéico purificado. Fonte: Do próprio autor.

5.6 COORTE

Seis meses de tratamento diário com H, na dosagem de 5 mg/Kg/dia, foi oferecido aos comunicantes elegíveis com resultado TT positivo, esquema de tratamento padrão para TBL preconizado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2004). A droga foi oferecida sem custos adicionais. O tratamento não foi oferecido aos comunicantes que foram diagnosticados com TB ativa ou as pacientes que relataram estar grávidas. Todos que aceitaram receber a droga foram convidados a retornar a cada 30 dias para reposição dos comprimidos de H e para avaliações clínicas. Todos os comunicantes foram instruídos a encerrar o tratamento imediatamente após o aparecimento de quaisquer reações adversas, como: náuseas, cefaléia, vômito, icterícia, dor abdominal, neuropatia periférica, prurido, erupção cutânea. Os exames de sangue para monitorar a toxicidade hepática foram realizados apenas nos comunicantes que relataram sintomas gastrointestinais.

Os comunicantes que completaram o tratamento para TBL foram definidos como aqueles que retornaram ao hospital a cada trinta dias, para reposição dos comprimidos, durante seis meses. Em seguida eles foram submetidos novamente à radiografia do tórax e coleta de sangue para a realização do IGRA, os níveis de IFN- γ antes e após o término do tratamento foram comparados. Os que não fizeram o tratamento completo foram definidos como aqueles que não retornaram para as visitas de acompanhamento.

5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados com o auxílio do software GraphPad Prism v.5.0 (GraphPad Inc., San Diego, CA) e o STATA 10.0 (Stata Corp, College Station, TX, USA). Foram calculadas frequências absolutas e relativas dos indivíduos em relação às variáveis demográficas e a positividade dos testes, apresentados em gráficos e tabelas. As variáveis que seguem distribuição normal foram descritas pela média e desvio-padrão, enquanto que as variáveis com distribuição não-normal foram expressas pela mediana e intervalo interquartil (IQR). A concordância entre os testes diagnósticos, TT e IGRA, foram estabelecidas pela estatística κ , utilizando um intervalo de confiança de 95%.

A presença de associação entre o diagnóstico da TBL e cada um das variáveis

identificadas foi avaliada por análise univariada, testando-se a significância através do teste do qui-quadrado (χ^2). Em seguida foi determinada a razão de probabilidade de ocorrência (*odds ratio*, OR) e os respectivos intervalos de confiança de 95% (IC95%) para as associações entre os potenciais fatores associado com ao diagnóstico da TBL. Realizou-se análise multivariada mediante modelo de regressão logística com o objetivo de controlar os fatores de confusão, ajustando-se os valores de OR e selecionando-se, entre as variáveis independentes que mostraram associação estatisticamente significativa na análise univariada, um conjunto restrito, com maior probabilidade de predizer a ocorrência de desfecho, adquirir TBL ou não completar o tratamento com H.

O teste de Wilcoxon foi utilizado para comparar os níveis de IFN- γ , antes e após o tratamento com H. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes para valores de $p \leq 0,05$.

6 RESULTADOS

Os resultados encontram-se descritos no artigo abaixo e nos artigos inseridos no apêndice.

AUMENTO DOS NÍVEIS DE INTERFERON-GAMA APÓS O TRATAMENTO DA TUBERCULOSE LATENTE EM SALVADOR, BRASIL

Artigo em processo de submissão: TAKENAMI, I.; FINKMOORE, B. C.; MACHADO JR, A.; EMODI, K.; RILEY, L. W.; ARRUDA, S. Levels of interferon-gamma increase after treatment for latent tuberculosis infection in Salvador, Brazil.

Levels of interferon-gamma increase after treatment for latent tuberculosis infection in Salvador, Brazil

Running head: Treatment of latent tuberculosis infection

Manuscrito em processo de submissão para a revista eletrônica: The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.

I. Takenami¹, B. Finkmoore², A. Machado Jr.^{3,4}, K. Emodi², L. W. Riley², Sérgio Arruda^{1,3/+}

¹Laboratório Avançado de Saúde Pública, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, Bahia, Brazil; ²School of Public Health, University of California, Berkeley, California, USA; ³Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, Bahia, ⁴Hospital Especializado Octávio Mangabeira, Salvador, Bahia, Brazil

¹Correspondence to: Sérgio Arruda, Laboratório Avançado de Saúde Pública, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, Bahia, Brazil 40296710. Tel: (+55) 71 3176 2232. e-mail: sa@bahia.fiocruz.br

Summary

Setting: Previous studies on T-cell response before and after treatment for latent tuberculosis infection (LTBI) have shown conflicting results, where the majority of the studies were conducted in settings with a low level of *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*) transmission.

Objective: To compare the levels of IFN- γ released by cells of whole blood after *in vitro* stimulation with *M.tb*-specific antigens in commercial interferon gamma release assay (IGRA) before and after a six-month course of isoniazid among individuals with LTBI at high risk for progression to active disease in a high-transmission setting.

Design: A total of 26 household contacts of pulmonary tuberculosis patients who were positive for LTBI by tuberculin skin test completed six-months of treatment and submitted a blood sample for follow-up examination. The IFN- γ response to *M.tb*-specific antigens was measured and the results before and after completion of LTBI treatment were compared.

Results: Of the 26 study participants, 25 (96%) showed an IFN- γ level higher than their baseline level before treatment ($P < 0.001$). Only one individual had a decreased IFN- γ level after treatment but remained positive for LTBI. In a high-transmission setting, the IFN- γ level has increased after LTBI treatment.

Conclusion: Most of individuals latently infected with *M.tb* increase levels of IFN- γ after isoniazid treatment. Further studies must be undertaken to understand if this elevation is transient.

INTRODUCTION

Commercially available interferon-gamma release assays (IGRAs) diagnose *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*) infection by measuring interferon-gamma (IFN- γ) released by cells of whole blood after *in vitro* stimulation with *M.tb*-specific antigens, early secreted antigenic target 6 (ESAT-6), and culture filtrate protein 10 (CFP-10).¹ These diagnostic tests are more specific than the tuberculin skin test (TST) because they include *M.tb*-specific antigens encoded by the region of difference 1 (RD1) which is absent from bacillus Calmette-Guérin (BCG) and most nontuberculous mycobacteria (NTM).¹⁻³ A recent meta-analysis concluded that the commercially available IGRAs have excellent specificity to diagnose latent tuberculosis infection (LTBI) and are unaffected by BCG-vaccination.⁴

The capacity of IGRAs to monitor the treatment response tuberculosis (TB) and LTBI is under investigation. This study was motivated by studies which have found that the level of IFN- γ released by cells of whole blood after *in vitro* stimulation with *M.tb*-specific antigens in commercial IGRAs declines in patients treated with multidrug regimens for active TB.⁵⁻⁷ Despite these results, some investigators have concluded that IGRAs may not be helpful in monitoring TB treatment because of high-inter subject variability and because test reversion is rare.^{8,9}

In contrast to treatment of active TB, previous studies on T-cell response before and after treatment for LTBI have shown conflicting results.¹⁰⁻¹² A study from Japan found that the levels of IFN- γ decreased after LTBI treatment although the commercial IGRA result did not revert to negative.¹¹ Another study in health care workers in India found that IFN- γ levels remain high after LTBI treatment.¹⁰ In Singapore, a study found that LTBI treatment had a differential effect on T-cell responses depending on which RD1 antigen the T-cells were exposed to.¹² It is unclear if the amount of IFN- γ released by T-cells stimulated with the *M.tb*-specific antigens in commercial IGRAs follow a specific pattern after completion of LTBI treatment. Moreover, it is unknown if specific T-cell responses after LTBI treatment are different in settings where transmission of *M.tb* in the community is low compared to setting where transmission is high.^{10,13-16} This study compares the IFN- γ levels, measured by a commercial IGRA, of household contacts (HHCs) of pulmonary TB patients before and after six-months of isoniazid (H) for the treatment of LTBI in a high-transmission setting.

STUDY POPULATION AND METHODS

Setting

Participants were recruited from Hospital Especializado Octávio Mangabeira (HEOM) a 217-bed public chest-disease hospital in Salvador, Brazil. In 2007, Salvador had a TB incidence of approximately 79 per 100 000 population.¹⁷

Study participants

Study participants were HHCs of patients hospitalized with pulmonary TB at HEOM who tested positive for LBTI by TST and completed a six-month course of H.¹⁸ None of the index cases or HHC were taking medication for the management of HIV. The characteristics of the index cases and all HHC are described elsewhere.¹⁹ The characteristics of the HHC who initiated LTBI treatment and their adherence to the six-month regimen are described elsewhere.²⁰ It is well documented in the literature that HHC with LTBI are at high risk of developing active disease during the two years after infection.²¹⁻²³

The study was approved by the human subjects committees of the Oswaldo Cruz Foundation in Salvador, Brazil and the University of California at Berkeley, USA. Informed consent was obtained for all study participants.

Data collection

Study participants underwent a baseline examination (TST, blood test, and interview) as part of another study.¹⁹ LTBI could only be diagnosed in those who returned to have their TST read. Those eligible for LTBI treatment were offered the six-month supply of H free of charge.²⁰ Among the HHC who initiated LTBI treatment, HHC considered to have completed treatment were those who collected six supplies of 30 H tablets from HEOM. A member of the study team (IT) called all HHC who completed LTBI treatment and invited them to return to HEOM for a follow-up examination and blood draw. HHC were called and asked to participate in the follow-up examination a maximum of four times.

Treatment

Study participants were given six months of daily H treatment (5 mg/kg, up to 300 mg daily); this is the standard treatment regimen in Brazil.¹⁸

Laboratory tests

The TST was administered according to the Mantoux method, by injecting intradermally 2 tuberculin units (in 0.1 mL) of purified protein derivate (RT23 PPD; Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark). The reading was performed 72 hours later by the chest physician on the study team (AMJ). The cut-off point for a positive reaction was ≥ 10 mm induration because this is the cut-off used in the decision to initiate treatment in Brazil at the time of the study, according to the Brazilian Society of Thoracic and phthisiology.¹⁸

The blood was examined with a commercially available IGRA, the QuantiFERON-TB[®] Gold In Tube (QFT-IT; Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia). QFT-IT includes the following *M.tb*-specific proteins: secreted antigenic protein 6 kDa (ESAT-6); culture filtrate protein 10 kDa (CFP-10); TB7.7 (Rv 2654). The test was performed according to the manufacturer's instructions at the immunology laboratory at Gonçalo Moniz Research Center in Salvador, Bahia, Brazil. The cut-off value for a positive response was 0.35 IU/mL. Samples that gave indeterminate results were reprocessed. Blood was drawn for the baseline IGRA before the TST was administered; both were conducted on the same day.

Statistical analysis

Data were analyzed using GraphPad Prism v.5.0 (GraphPad Inc., San Diego, CA). Wilcoxon's signed rank test was used to compare the median IFN- γ levels before and after H treatment. The difference between the median values at the two time points were considered statistically significant when the p-value ≤ 0.05 .

RESULTS

Of the 101 HHC of pulmonary TB patients who tested positive for LTBI by TST and initiated on LTBI treatment between January 2007 and February 2008, 55 (54.5%) completed six-months of therapy with H. Of the 55 HHC, 26 (47.3%) returned to HEOM for the follow-up examination and submitted a second blood sample for a second test. The second blood sample was submitted for follow-up examination between four and 14 months after completion of LTBI treatment (Figure 1). None of the 26 HHC who returned for the follow-up examination sought medical attention at HEOM for symptoms consistent with TB between the time they concluded LTBI treatment and the follow-up examination.

The median age of the 26 HHC who returned for the follow-up examination was 27 years (IQR 12.0-37.5). Sixteen (61.5%) were women and 23 (88.5%) had BCG vaccination scars. At baseline examination, the median value of the TST induration was 13 mm (IQR 12.0-16.7) among the 26 HHC who returned for follow-up examination. Of the 29 HHC who did not return for follow-up examination, the median age was 19 years (IQR 11.5-39.0); 15 (51.7%) were male and 28 (96.5%) had a BCG vaccination scar and, the median value of the TST induration was 16 mm (IQR 11.0-19.5) at baseline examination. The socio-demographic, clinical and laboratory profile of the HHC who did and did not return for follow-up examinations were not significantly different (data not shown).

Of the 26 HHC who completed H treatment and returned for follow-up examination, 16 (61.5%) were QFT-IT positive and 10 (38.5%) were QFT-IT negative at baseline examination. All 16 HHC who were QFT-IT positive at baseline tested positive by QFT-IT in the follow-up examination. Of the 10 HHC who were QFT-IT negative at baseline, five (50%) tested negative and five (50%) tested positive by QFT-IT in the follow-up examination. Not one HHC who tested positive by QFT-IT at baseline tested negative after completing H treatment (Figure 2).

Among the 16 HHC who tested positive by QFT-IT before LTBI treatment, the median IFN- γ level to the *M.tb*-specific antigens at baseline evaluation was 5.55 IU/mL; the median IFN- γ level of this group after six-months of H treatment was 12.97 IU/mL (p-value = 0.0007) (Figure 3A). One individual who tested QFT-IT positive before LTBI treatment had a decreased IFN- γ level after treatment but remained QFT-IT positive (IFN- γ \geq 0.35 IU/mL) (Figure 3A). Among the 10 HHC who tested negative by QFT-IT before LTBI treatment, the median IFN- γ level to the *M.tb*-specific antigens at baseline evaluation was 0.02 IU/mL; the

median IFN- γ level of this group after six-months of H treatment was 0.32 IU/mL (p-value = 0.008) (Figure 3B).

The difference in the median value of IFN- γ before and after treatment was 7.42 IU/mL and 0.30 IU/mL in IHC who were QFT-IT positive and those negative at baseline, respectively (p-value = 0.0012).

DISCUSSION

The treatment of LTBI is a basic strategy for TB control. A six-month course of a single drug, H, is effective in preventing individuals with LTBI from progressing to active disease.²⁴ It is difficult, however, to monitor LTBI treatment in individual patients. It is unknown if the results from commercial IGRAs that are approved for the diagnosis of TB and LTBI correlate with clinical outcomes or follow a specific pattern after antibiotic treatment for *M.tb* infection.

The current published data on the effects of LTBI treatment on IFN- γ levels are inconsistent. Studies from low-transmission settings where repeat exposure to *M.tb* is unlikely have found that T-cell IFN- γ levels decline after treatment. One such study in the United Kingdom followed the T-cell responses in students exposed to *M.tb* in a point-source school TB outbreak. Students meeting the UK guideline for treatment of LTBI by indication from TST results were given both rifampin (R) and H; after completion of therapy, the levels of IFN- γ response in the students substantially decreased. However, the levels of IFN- γ response also decreased in the students who tested negative by TST and did not undergo treatment.²⁵ Another study in recent immigrants to the UK showed that T-cells produced higher levels of IFN- γ one month after the initiation of treatment for LTBI but towards the end of the LTBI treatment course, the IFN- γ level decreased. This study found that the T-cell response did not change in those with LTBI who were not initiated on treatment. Also, the author showed that peripheral blood mononuclear cells infected with *M.tb* and treated *in vitro* with H, but not R, led to an increase in the number of IFN- γ producing cells. These results suggest that H acts by actively destroying the bacilli through of the disruption the cell wall. Such a process may contribute to the increased release of cell wall associated antigens, resulting in an increased numbers of antigens-specific T-cells being detected during treatment.¹⁵

Pai et al. (2006) have demonstrated that the baseline of T-cell IFN- γ response among Indian health care workers was high even ten months after completion of treatment for LTBI

this was a high transmission setting.¹⁰ On the other hand, a study by Higuchi et al. (2008) of individuals who had contact with TB patients in Tokyo showed a decline in IFN- γ levels six months after completion of treatment for LTBI without test reversion.¹¹ A study conducted in Rome, also an area of low transmission, found a significant decrease in IFN- γ levels in patients after 1–2 months of LTBI treatment and found that response of the majority of the patients became undetectable after six months.¹⁶

Here we found that the IFN- γ levels of individuals with documented LTBI increased after H treatment. Regardless of baseline QFT-IT, 25 of 26 (96%) HHC had a higher IFN- γ level between six and 14 months after completion of H treatment. Individuals who tested QFT-IT positive at baseline had a greater increase in IFN- γ levels after treatment than did individuals who tested QFT-IT negative at baseline (Figures 2A and 2B).

Increased production of IFN- γ by T-cells may be the result of a massive release of antigens when the *M.tb* bacilli are killed by H treatment.²⁵ This theory is supported by our finding that HHC who tested positive by QFT-IT at baseline, and presumably had a higher bacillary load, experienced a greater increase in IFN- γ levels after H therapy than those who tested negative by QFT-IT.

TST was unlikely to influence the baseline IGRA, since the HHC submitted the blood sample for baseline testing before the TST was administered. However, the TST given at the baseline evaluation may have interfered with the follow-up IGRA result due to TST-mediated boosting of IGRA responses which has been reported elsewhere.^{26,27} The 26 HHC in this study submitted blood for follow-up IGRA testing between 4 and 14 months after the baseline evaluation which included TST (Figure 1). A recent systematic review suggests that TST affects IGRA responses 3 days after the TST is administered but its influence may persist for several months.²⁸

This study was conducted in a high-transmission setting; Salvador has one of the highest incidence rates of TB in Brazil. Therefore, it is possible that some of the HHC were re-infected with *M.tb* after the completion of treatment and before they submitted blood samples for the follow-up examination. Moreover, follow-up examinations occurred between four and 14 months after completion of H treatment. This long period of time increases the possibility that elevated IFN- γ levels is due to re-infection. It is also possible that study participants were exposed to environmental mycobacteria which share the ESAT-6 and CFP-10 genes (eg. *M. kansasii*) and this contributed to elevated production of IFN- γ by T-cells.

IGRAs are not able to accurately estimate IFN- γ production by T-cells beyond 10 IU/mL and two of 26 HHC had IGRA results above this level in the baseline examination and 10 of 26 HHC had IGRA results above this level in the follow-up examination. These values are likely to overestimate the IFN- γ production and should not be considered to be different than 10 IU/mL.

One of this study's limitations is that the medications were self-administered (Machado et al. 2009b). We assume that the HHC who returned to the hospital each month for six months and received H refills were motivated to take the medication. However, we cannot exclude the possibility that some of the 26 HHC included in this study did not complete the LTBI treatment according to the protocol. Another limitation of this study is that less than half of the HHC who completed H treatment submitted blood for follow-up examination by QFT-IT. There were not substantial epidemiologic differences between those HHC who returned for the follow-up exam and those who did not. Therefore, it is unlikely that the 26 HHC who were satisfactorily tested by two IGRAs were a biased group. Another limitation is that the single QFT-IT test for each study participant before and after completion of H treatment were not taken at the same time. Finally, this study did not have a control group of untreated HHC with LTBI in whom the T-cell responses were monitored at the same time. Limitations in the study design precluded these data from being collected and Salvador does not have an active contact-tracing program through which to monitor individuals at high risk for progressing to active disease.

The data presented in this study suggest that IGRA results increase in individuals after completion of LTBI treatment; however, conflicting data from other studies and the limitations of our study, do not allow us to exclude the potential role of IGRAs in monitoring LTBI treatment. To further investigate this, larger studies in high-transmission settings must be conducted, which collect data on the T-cell responses of people with LTBI before, during and after LTBI treatment over a longer time period.

Acknowledgements

We acknowledge the director of the HEOM, the clinical laboratory of the hospital, and the EBMSp students by their contribution with medical questionnaire interviews.

Financial support: NIH Fogarty International Center (5U2RTW 006885).

IT was a Master's student supported by the National Institute of Science and Technology on Tuberculosis (INCT-TB/CAPES).

References

1. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM 2000. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 356: 1099–104.
2. Pai M, Riley LW, Colford JM Jr 2004. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 4: 761–76.
3. Eum SY, Lee YJ, Kwak HK, Min JH, Hwang SH, Via LE, Barry CE 3rd, Cho SN 2008. Evaluation of the diagnostic utility of a whole-blood interferon-gamma assay for determining the risk of exposure to *Mycobacterium tuberculosis* in bacille Calmette-Guérin (BCG)-vaccinated individuals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 61: 181–86.
4. Pai M, Zwering A, Menzies D 2008. Systematic Review: T-Cell-based Assays for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection: An Update. *Ann Intern Med* 149: 177-84.
5. Aiken AM, Hill PC, Fox A, McAdam KPWJ, Jackson-Sillah D, Lugos MD, Donkor SA, Adegbola RA, Brookes RH 2006. Reversion of the ELISPOT test after treatment in Gambian tuberculosis cases. *BMC Infect Dis* 6: 66.
6. Kobashi Y, Mouri K, Yagi S, Obase Y, Miyashita N, Okimoto N, Matsushima T, Kageoka T, Oka M 2009. Transitional changes in T-cell responses to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens during treatment. *J Infect* 58: 197-204.
7. Sauzullo I, Mengoni F, Lichtner M, Massetti AP, Rossi R, Iannetta M, Marocco R, Del Borgo C, Soscia F, Vullo V, Mastroianni CM 2009. In Vivo and In Vitro Effects of Antituberculosis Treatment on Mycobacterial Interferon-gamma T Cell Response. *Plos One* 4: e5187.
8. Bosshard V, Roux-Lombard P, Perneger T, Metzger M, Vivien R, Rochat T, Janssens JP 2009. Do results of the T-SPOT.TB interferon-g release assay change after treatment of tuberculosis? *Respir Med* 103: 30-4.
9. Ribeiro S, Dooley K, Hackman J, Loredó C, Efron A, Chaisson RE, Conde MB, Boechat N, Dorman SE 2009. T-SPOT.TB responses during treatment of pulmonary tuberculosis. *BMC Infect Dis* 9: 23.
10. Pai M, Joshi R, Dogra S, Mendiratta DK, Narang P, Dheda K, Kalantri S 2006. Persistently elevated T cell interferon- γ responses after treatment for latent tuberculosis infection among health care workers in India: a preliminary report. *J Occup Med Toxicol* 1:7.
11. Higushi K, Harada N, Mori T 2008. Interferon-g responses after isoniazid chemotherapy for latent tuberculosis. *Respirology* 13: 468–472.

12. Chee CBE, Barkham TMS, KhinMar KW, Gan SH, Wang YT 2009. Quantitative T-cell interferon-gamma responses to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens in active and latent tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 28: 667–70.
13. Carrara S, Vincenti D, Petrosillo N, Amicosante M, Giradi E, Goletti D 2004. Use of a T Cell-Based Assay for monitoring efficacy of antituberculosis therapy. *Clin Infect Dis* 38(5): 754-6.
14. Lalvani A 2004. Counting antigen-specific T Cells: a new approach for monitoring response to tuberculosis treatment? *Clin Infect Dis* 38(5): 757-9.
15. Wilkinson KA, Kon OM, Newton SM, Meintjes G, Davidson RN, Pasvol G, Wilkinson RJ 2006. Effect of Treatment of Latent Tuberculosis Infection on the T Cell Response to *Mycobacterium tuberculosis* Antigens. *J Infect Dis* 193: 354 -9.
16. Goletti D, Parracino MP, Butera O, Bizzoni F, Casetti R, Dainotto D, Anzidei G, Nisii C, Ippolito G, Poccia F, Girardi E 2007. Isoniazid prophylaxis differently modulates T-cell responses to RD1-epitopes in contacts recently exposed to *Mycobacterium tuberculosis*: a pilot study. *Respir Res* 8 :5.
17. MS – Ministério da Saúde, Brasil 2009. Fundação Nacional de Saúde. *Centro Nacional de Epidemiologia*. Informe epidemiológico do DATASUS, Brasília. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br>.
18. MS – Ministério da Saúde 2004. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. II Consenso Brasileiro de Tuberculose. Diretrizes Brasileiras para Tuberculose 2004. *J Bras Pneumol* 30: S2 -56.
19. Machado A, Emodi K, Takenami I, Finkmoore BC, Barbosa T, Carvalho J, Cavalcanti L, Santos G, Tavares M, Mota M, Barreto F, Reis MG, Arruda S, Riley LW 2009. Analysis of discordance between tuberculin skin test and interferon-gamma release assay. *Int J Tuberc Lung Dis* 13: 446–53.
20. Machado A, Finkmoore B, Emodi K, Takenami I, Barbosa T, Tavares M, Reis MG, Arruda S, Riley LW 2009. Risk factors for failure to complete a course of latent tuberculosis infection treatment in Salvador, Brazil. *Int J Tuberc Lung Dis* 13(6): 719–25.
21. Parrish NM, Dick JD, Bishai WR 1998. Mechanisms of latency in *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends Microbiol* 6: 107-12.
22. ATS – American Thoracic Society 2000. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *MMWR* 49: 1 -51.

23. Radhakrishna S, Frieden TR, Subramani R, Santha T, Narayanan PR 2007. Additional risk of developing TB for household members with a TB case at home at intake: a 15-year study. *Int J Tuberc Lung Dis* 11: 282–8.
24. Johnston BJ, Conly JM 2001. Re-examining treatment of latent tuberculosis infection. *Can J Infect Dis* 12(4): 211-4.
25. Ewer K, Millington KA, Deeks JJ, Alvarez L, Bryant G, Lalvani A 2006. Dynamic antigen-specific T-cell responses after point-source exposure to *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med* 174: 831–9.
26. Leyten EMS, Prins C, Bossink AWJ, Thijsen S, Ottenhoff THM, Leyten EM, Prins C, Bossink AW, Thijsen S, Ottenhoff TH, van Dissel JT, Arend SM 2007. Effect of tuberculin skin testing on a *Mycobacterium tuberculosis*-specific interferon- γ assay. *Euro Resp J* 29: 1212–1216.
27. Van Zyl-Smit RN, Pai M, Pehrah K, Meldau R, Kieck J, Juritz J, Badri M, Zumla A, Sechi LA, Bateman ED, Dheda K 2009. Within-Subject variability and boosting of T cell IFN- γ responses following tuberculin skin testing. *Am J Respir Crit Care Med* 180: 49-58.
28. Van Zyl-Smit RN, Zwerling A, Dheda K, Pai M 2009b. Within-Subject variability of interferon- γ assay results for Tuberculosis and boosting effect of tuberculin skin testing: a systematic review. *Plos One* 4: e8517.

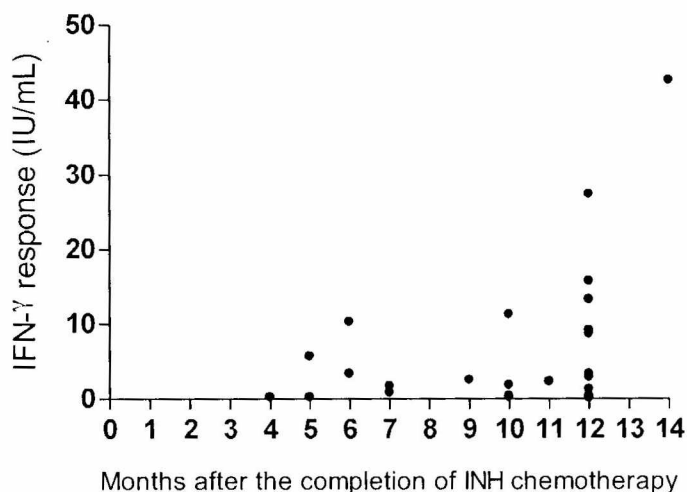


Figure 1. The difference between the baseline and follow-up IGRA result according to the number of months elapsed between the completion of H treatment and the follow-up examination. IFN- γ levels were measured by QFT-IT and plotted for each study participant (n=26). H = isoniazid; IFN- γ = interferon-gamma; QFT-IT = QuantiFERON[®] TB Gold in Tube.

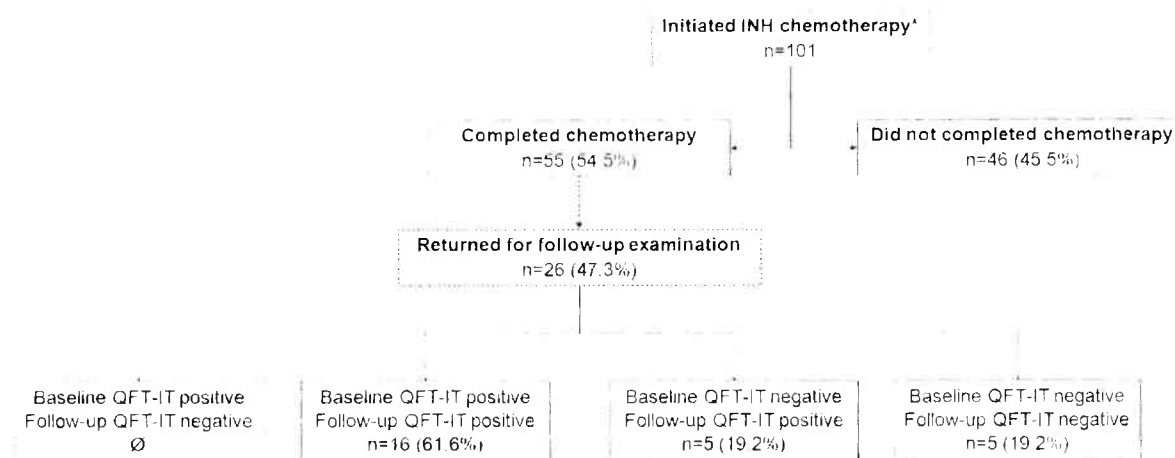


Figure 2. Flow chart of the study population and the study participants. * TST \geq 10 mm. H = isoniazid; QFT-IT = QuantiFERON[®] TB Gold in Tube; TST = tuberculin skin test.

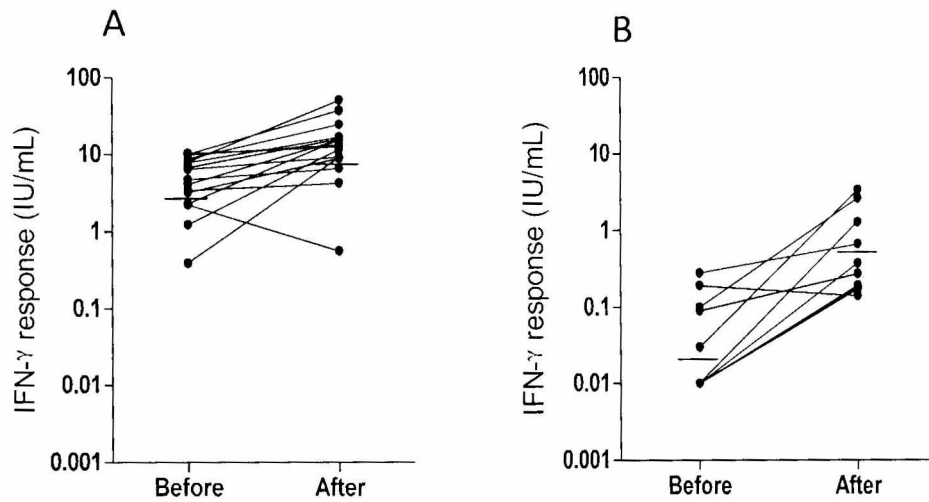


Figure 3. IFN- γ levels before and after H treatment for LTBI measured by QFT-IT stratified by baseline QFT-IT result; (A) positive QFT-IT and (B) negative QFT-IT. The solid line represents the median value of IFN- γ levels at the two time points. The differences between the median values in each group before and after H treatment are significant by the Wilcoxon signed rank test ($P = 0.0007$ and $P = 0.005$, respectively). IFN- γ = interferon-gamma; H = isoniazid; QFT-IT = QuantiFERON-TB[®] Gold in Tube.

7 DISCUSSÃO

O TT tem sido o único teste empregado no Brasil para diagnosticar a TBL. A sua importância em saúde pública tem sido inestimável, pois além de avaliar a prevalência da TBL, permite conhecer a magnitude da TB numa população (SARINHO et al, 1991). No entanto, sua especificidade é limitada devido à reação cruzada com MNT e com cepas vacinais do *M. bovis*, o que faz com que ocorra a existência de resultados falso-positivos na população (ANDERSEN et al, 2000; MAZUREK et al, 2001).

Decorrente das limitações têm-se desenvolvidos novos testes diagnósticos para aumentar a sensibilidade e a especificidade na detecção da TBL. Os ensaios baseados na liberação de IFN- γ têm se mostrado promissores em vários estudos realizados em países de baixa prevalência da infecção. Adicionalmente, não apresentam os problemas de especificidade na detecção da TBL (BROCK et al, 2004; KANG et al, 2005; DOMÍNGUEZ et al, 2008), inclusive em crianças (BRUZZESE et al, 2009; BIANCHI et al, 2009).

Ao contrário, em regiões de alta prevalência o papel dos ensaios de IFN- γ é ainda pouco definido. Nestes locais, existe evidências de que a sensibilidade do IGRA, especialmente o QFT, pode ser baixa. Particularmente o QFT-IT tem sensibilidade 10% menor, quando comparado com o T.SPOT.TB[®] (DHEDA et al, 2009). Nesses locais de alta prevalência o desempenho do IGRA não é superior ao do TT, os estudos demonstram que um resultado TT positivo indica realmente infecção verdadeira (AREND et al, 2007; OKADA et al, 2008; ADETIFA et al, 2007, DAVIDOW et al, 2009). Assim, apesar das suas desvantagens, o TT ainda é largamente utilizado no diagnóstico da TBL, sobretudo pelo baixo custo e simplicidade.

A prevalência da TBL entre os comunicantes domiciliares avaliada neste estudo de acordo com o resultado do TT foi de 55,6%. Não existem dados recentes sobre prevalência da TBL no Brasil, este achado é de 2,2 vezes superior à última estimativa de prevalência da TBL na população mundial (DYE et al, 1999). Embora a prática de estudar a TBL em países de alta prevalência não seja rotineira (MORRISON et al, 2008), os resultados foram semelhantes aos obtidos em outros estudos (PAI et al, 2005; ADETIFA et al, 2007; MENZIES et al, 2007; PAI et al, 2004).

Uma moderada concordância entre o TT e o IGRA (76%) já foi encontrada em outros trabalhos, mas com algumas variações (PAI et al, 2004; PAI et al, 2005; ADETIFA et

al, 2007). Contudo, a discordância entre os testes de 24% incita questionamento sobre a utilização deste teste diagnóstico em um país de alta prevalência de TBL como o Brasil. Adicionalmente, a ausência de um padrão ouro para o diagnóstico da TBL não nos permite calcular com precisão as medidas de desempenho dos testes diagnóstico como: sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo. Os estudos que calculam estes parâmetros avaliam indivíduos com TB ativa (CHEE et al, 2008; KABEER et al, 2010).

A interpretação dos resultados discordantes torna-se difícil. Resultados TT positivos e IGRA negativos podem ser influenciados por MNT (DOMÍNGUEZ et al, 2008). Um estudo feito em Manaus por Bierrenbach *et al.* (2003) verificaram que há um grande número de indivíduos TT positivos como consequência da infecção por MNT. Por outro lado, uma recente metanálise concluiu que infecções por MNT, não são fatores clinicamente importantes como causa de resultados falso positivos do TT, exceto em populações com alta prevalência de MNT e com baixa prevalência de TBL (MORRISON et al, 2008). Contudo, o grau de infecção por MNT na população de Salvador não foi determinado. Com a determinação deste coeficiente, teria sido possível avaliar melhor ambos os testes no contexto brasileiro.

Igualmente, o resultado positivo do TT, pode ter sido também, influenciado pela vacina BCG. A presença de cicatriz BCG ocorreu em 76% dos comunicantes. Entretanto os comunicantes com resultado TT positivo e IGRA negativo não tinham maior chance de ter cicatriz vacinal por BCG quando comparado com os resultados TT negativo e IGRA negativo. Este achado sugere que a vacinação por BCG não influenciou significativamente os resultados do TT nesta população estudada. Além disso, o efeito da vacina BCG no resultado do TT é mínimo, especialmente após 10 ou mais anos da aplicação (WANG et al, 2002, FARHAT et al, 2006). Além disso, há evidências na literatura de que a endureção cutânea ao TT induzida pela BCG diminui rapidamente em regiões tropicais do que nas regiões com clima temperado (FLOYD et al, 2002). O IGRA exima-se desta reação cruzada com a vacina BCG, pois utiliza antígenos específicos do *M. tuberculosis*. No Brasil este teste poderia ter maior utilidade, pois a vacina BCG é amplamente empregada no país desde o final da década de 1970, à todos os recém-nascidos (ANDRADE et al, 2005).

Resultados TT negativo e IGRA positivo podem ser devido a alta endemicidade da hanseníase. *Mycobacterium leprae* secreta proteínas homólogas as proteínas ESAT-6 e CFP-10 do *M. tuberculosis*, o que pode comprometer a especificidade do IGRA, principalmente no Brasil onde a hanseníase é endêmica, gerando resultados falso-positivos na população (DHEDA et al, 2009). Igualmente, o IGRA, em virtude do curto período de incubação, quantifica o IFN- γ produzido pelas células T efectoras. Assim, o resultado IGRA positivo

poderia ser devido a liberação precoce do IFN- γ pelas células T efectoras, sugerindo infecção recente ou TBL em curso (TSIOURIS et al, 2006; PORSA et al, 2006). Enquanto que a reação de hipersensibilidade tardia mede tanto as células T efectoras quanto as células T de memória que migraram para o tecido subcutâneo dérmico em resposta ao PPD.

Na presente amostra, três comunicantes (1%) tiveram resultado IGRA indeterminado, indicado por uma baixa resposta ao mitógeno (≤ 0.5 UI/mL de IFN- γ), esse achado sugere a ausência de comprometimento imunológico significativo nessa população. Não foi realizada o teste para HIV e a falta de dados sobre o estado imunológico dos comunicantes é uma das limitações deste estudo.

Radiografias de tórax exibindo opacidades pulmonares de aspecto residual, sugestivas de processo granulomatoso controlado no passado, foram observadas em 31 (10,9%) dos comunicantes domiciliares. A presença de lesões pulmonares de aspecto residual esteve fortemente associada ao TT positivo (60%) ou IGRA positivo (77,8%), fato que sugere que os comunicantes tiveram TB primária assintomática, perpetuando os resultados IGRA e TT positivos.

Na população avaliada 100 comunicantes foram positivos para os testes TT e IGRA. Assim na ausência de um teste padrão ouro para diagnóstico da TBL, esta associação de testes positivos foi utilizada neste estudo como um indicador de infecção verdadeira. Diversos fatores endógenos têm sido associados à TBL em comunicantes, dentre eles: a lesão cavitária e a alta densidade bacilar no escarro do paciente índice, o retardo para iniciar o tratamento, bem como dormir no mesmo ambiente que o paciente índice. Neste trabalho não foi encontrado maior risco para os comunicantes com resultados TT positivo e IGRA positivo que dormiam no mesmo ambiente ou que foram expostos por mais de um mês ao paciente índice. Similarmente, os comunicantes expostos a pacientes com lesão cavitária não tiveram maior risco de ter resultados TT positivo e IGRA negativo. Concordante com a literatura, os comunicantes expostos a alta densidade bacilar do escarro dos pacientes índices, ou seja, 3+, tiveram maior chance de resultados TT positivo e IGRA positivo, após ajuste para todas as outras variáveis.

Os estudos que comparam o TT com o IGRA em populações de alto risco frequentemente identificam resultados discordantes entre os grupos de comunicantes: TT positivo e IGRA negativo ou TT negativo e IGRA positivo. Clinicamente e epidemiologicamente os indivíduos com resultados TT positivos e IGRA negativos são aqueles de maior preocupação, tendo em vista que a base do tratamento para TBL em muitos

países, incluindo o Brasil, ainda é baseado no resultado positivo do TT.

Neste estudo foram identificados 40 comunicantes com resultados TT positivo e IGRA negativo. O grande dilema é saber qual teste a ser seguido para indicar ou não o tratamento da TBL. É importante ressaltar que, nesse estudo, os comunicantes com resultados TT-positivo e IGRA negativo tinham características clínicas e demográficas semelhantes aqueles com resultados concordantes positivos, TT positivo e IGRA positivo, quando ambos os grupos foram comparados com as características do grupo TT negativo e IGRA positivo. Após ajuste para todas as outras variáveis, o grupo TT positivo e IGRA negativo tinham significativamente mais chance de ter lesões residuais pulmonares, similar ao grupo TT positivo e IGRA positivo. Além disso, os comunicantes do grupo TT positivo e IGRA negativo tinham maior chance de viver em domicílios menores do que os que tinham resultados TT negativo e IGRA negativo. A faixa etária dos comunicantes com resultado TT positivo e IGRA negativo e com resultados TT positivo e IGRA positivo foi semelhante, 15 a 45 anos e 13 a 41 anos, respectivamente. Outras características de risco não foram identificadas entre os grupos com resultados TT positivo e IGRA negativo e com resultados TT positivo e IGRA positivo.

Por outro lado, os comunicantes que apresentam resultados discordantes TT negativo e IGRA positivo, tiveram menor chance de terem sido expostos ao paciente índice com radiografia do tórax exibindo lesões cavitárias e maior chance de exposição ao paciente índice por mais de um mês. Este grupo, TT negativo e IGRA positivo apresentavam significativamente mais idade (mediana de 37 anos, IQR=39-56) do que o grupo TT negativo e IGRA negativo (mediana de 22 anos, IQR=9-36). Nienhaus *et al.* (2008) igualmente, encontraram maior probabilidade de se obter resultado TT negativo e IGRA positivo com o avançar da idade, fato que pode indicar que, apesar do maior tempo de exposição as células T poderiam ter menor resposta ao antígenos da tuberculina.

No atual trabalho, conduzido em uma cidade com elevada incidência de TB, com alta prevalência de TBL, na qual a vacina BCG é rotineiramente aplicada, a discordância encontrada foi de 24% e a vacina BCG não contribui para esta discordância. Um estudo sobre a progressão da TBL para a TB ativa, em contatos com resultados negativos do IGRA, tanto com resultados TT positivo ou TT negativo, evidenciou baixo risco de progressão para a doença (DIEL *et al.*, 2008). Todavia, esse resultados foram obtidos em uma população diferente da nossa, com definição de contatos menos restrita. A utilidade dos IGRAs varia, conforme a carga da TB na região. Em regiões com elevada prevalência e incidência de TB, o TT tem bom desempenho e correlaciona-se de forma semelhante com os IGRAs,

considerando a intensidade da exposição ao *M. tuberculosis*. O tratamento da TBL é um elemento importante no controle da TB. Portanto as recomendações para o início do tratamento da TBL identificados pelo TT, em populações de alto risco, não devem ser modificadas sem análise criteriosa dos novos testes diagnósticos. Adicionalmente, é mais adequado manter a decisão de iniciar o tratamento da TBL em comunicantes no Brasil, baseando-se no resultado positivo do TT, até que outros trabalhos com resultados discordantes, em populações altamente expostas, sejam conduzidos e revelem resultados diferentes do atual.

Os comunicantes domiciliares estão sob alto risco de desenvolver TB ativa após o início da exposição. Entretanto, durante a avaliação inicial dos comunicantes domiciliares, apenas dois (0,7%) casos desenvolveram TB pulmonar ativa. Essa reativação é menor do que se tem relatado na literatura. Em um estudo longitudinal realizado em Salvador, Bahia, foi encontrada uma taxa de prevalência de 2,5% de TB ativa na avaliação inicial de comunicantes (LEMOS et al, 2004). Contudo um outro estudo transversal, em Kampala, Uganda, os autores encontraram uma taxa de TB ativa de 4,2% em comunicantes (WHALEN et al, 2006). Morrinson *et al.* (2008) em uma recente revisão sistemática da literatura, encontraram 4,5% da prevalência de TB ativa nos comunicantes, em países pobres ou em desenvolvimento.

Tratamento por seis meses com uma única droga é eficaz na prevenção do desenvolvimento da doença em indivíduos com TBL (JOHNSTON; CONLY, 2001). No presente estudo o tratamento com H foi bem aceito e tolerável. Dos 101 comunicantes que iniciaram o tratamento para a TBL, 54,5% completaram os seis meses de terapia com H. Esta taxa foi semelhante às taxas encontradas em outros estudos (SMIEJA et al, 2000; MARAIS et al, 2006; PAGE et al, 2006).

No Brasil não existem dados publicados sobre a conclusão do tratamento para a TBL. Pouco estudos abordam especificamente contatos próximos de TB pulmonar infectante (SMIEJA et al, 2000). É possível que em centros nos quais não exista estímulo para a continuação e conclusão do tratamento os resultados sejam inferiores. Além disso, existem também poucos estudos que abordem os fatores associados ao abandono do tratamento da TBL com H em indivíduos não infectados pelo HIV, em países que administram BCG como medida preventiva para a TB (SMIEJA et al, 2000). Dois estudos recentes que fornecem informações sobre o momento do abandono foram conduzidos nos Estados Unidos (THOMPSON et al, 1982; BEHR et al, 1998). Em um estudo de coorte retrospectivo em pacientes com TBL, mais da metade dos pacientes que iniciaram e não completaram o tratamento, abandonaram no primeiro mês (BEHR et al, 1998). Este achado é semelhante aos

encontrados no presente trabalho, contudo os fatores de risco para o abandono no primeiro mês não foram investigados.

Dos 47 comunicantes que abandonaram o tratamento, 42 (89%) não retornaram ao Hospital para receber H subsequentes após o terceiro mês e, quase 2/3 dos que abandonaram, o fizeram imediatamente, logo após o início do tratamento. Esse achado é de grande importância, pois a proposta de reduzir o tempo de terapia para três ou quatro meses, não teria grande benefício uma vez que o abandono ocorre logo no primeiro mês. Os comunicantes que necessitavam ingressar em duas linhas de ônibus do domicílio para o HEOM representaram 96% daqueles que abandonaram o tratamento imediatamente e, portanto, não retornaram para qualquer visita subsequente. O número de linhas de ônibus que os comunicantes necessitam para chegar ao HEOM não esteve relacionado com a distância na qual o comunicante vivia do hospital. Portanto, os resultados indicam que número de linhas de ônibus, e não a distância da residência, necessárias para o comunicante comparecer ao HEOM, foi a variável que melhor descreveu os comunicantes que não completaram o tratamento.

Cerca de 29% dos comunicantes que iniciaram o tratamento para a TBL, não retornaram para qualquer visita subsequente, para reposição dos comprimidos de H. Esquemas de tratamento para a TBL mais curtos têm sido propostos com o objetivo de aumentar a taxa de conclusão da terapia. Todavia, o presente trabalho sugere que um esquema de tratamento de quatro meses preveniria apenas a perda de cinco comunicantes (11%). Este achado sugere: primeiro; que um tratamento para a TBL mais curto não irá aumentar expressivamente a taxa de conclusão da terapia, segundo; os médicos devem observar para os potenciais fatores de risco no abandono do tratamento, desde a primeira entrevista com o comunicantes. Os achados deste estudo demonstram claramente que a tolerabilidade a H e o fácil acesso ao transporte mensal entre a residência do comunicante e o centro de tratamento são bons preditores de conclusão do tratamento para TBL.

Em um estudo anterior que avaliou o risco de TB em comunicantes em Salvador, a doação de vale refeição aos participantes que retornavam para a leitura do TT, determinou alta taxa de retorno dos comunicantes (LEMOS et al, 2004). Conseqüentemente, os resultados deste estudo sugerem que o subsídio de passagens de ônibus para os comunicantes melhorará a aderência ao tratamento da TBL. Com monitorização mensal e encorajamento, o tratamento foi bem aceito e tolerado pelos pacientes que retornaram para a primeira visita de seguimento. Os fatores que contribuíram para a baixa conclusão do tratamento de seis meses, em uma região endêmica, foram identificados nesta coorte. Assim, os preditores de abandono são passíveis de identificação já na primeira entrevista. Dificuldade de transporte urbano é um

exemplo de fator demográfico identificável no primeiro contato entre o médico e os comunicantes. Portanto essas observações revelam que o tratamento da TBL em nosso país é factível e deve ser reforçado como parte do PNCT.

Apesar da H ser eficaz em prevenir o desenvolvimento da TB ativa nos indivíduos com TBL (JOHNSTON; CONLY, 2001). É difícil, no entanto, monitorar o tratamento em pacientes individuais. Não se sabe se os resultados dos ELISAs comerciais correlacionam com desfechos clínicos ou seguem um padrão específico após o tratamento para a TBL.

Os dados atuais sobre o efeito do tratamento da TBL nos níveis de IFN- γ são inconsistentes. No presente estudo mostramos que os níveis de IFN- γ , dosados por um IGRA comercial, aumentam após o tratamento com H. Independentemente dos níveis de IFN- γ detectados inicialmente no IGRA, 25 de 26 (96%) comunicantes apresentaram um aumento no nível de IFN- γ após o término do tratamento. Contudo, os indivíduos que eram IGRA positivo antes do tratamento tiveram um maior aumento nos níveis de IFN- γ após o tratamento quando comparado com os indivíduos que apresentaram inicialmente resultados IGRA negativo.

O aumento da produção de IFN- γ por células T pode ser resultado de uma liberação maciça de antígenos, evidenciado pela morte dos bacilos com o uso da H (EWER et al, 2006). Esta teoria é sustentada pelo fato de que comunicantes que eram positivos antes do tratamento e que provavelmente tinha uma maior carga bacilar, tiveram maior aumento nos níveis de IFN- γ , após a terapia com H do que aqueles que apresentaram resultados TT positivo e IGRA-negativo.

O TT não influenciou o resultado do IGRA inicial, uma vez que a coleta de sangue para a realização do IGRA foi realizada antes da administração do TT. No entanto, o TT proferido na avaliação inicial pode ter interferido com os resultados subsequentes do IGRA, elevando os níveis de IFN- γ dosado pelo IGRA. Há evidências na literatura que o aumento nos níveis de IFN- γ pode ser mediado pelo TT (LEYTEN et al, 2007, VAN ZYL-SMIT et al, 2009a). Uma revisão sistemática recente sugere que o TT afeta as respostas do IGRA três dias após ser administrado o TT e que, sua influência pode persistir por vários meses (VAN ZYL-SMIT et al, 2009b).

Este estudo foi conduzido em um ambiente de alta transmissão, Salvador tem uma das maiores taxas de incidência de TB no Brasil. Portanto, é possível que alguns dos comunicantes tenham sido re-infectados pelo *M. tuberculosis* após a conclusão do tratamento e antes de terem retornado para uma nova coleta de sangue. Além disso, a segunda coleta de

ocorreu entre quatro e 14 meses após a conclusão do tratamento com H. Este longo período de tempo aumenta a probabilidade de que elevados níveis de IFN- γ podem ser resultado de uma nova reinfecção. Também é possível que os participantes do estudo foram expostos às micobactérias ambientais que compartilham os genes, responsáveis pela produção de ESAT-6 e CFP-10 (por exemplo, *M. kansasii*) e isso contribuiu para uma elevada produção de IFN- γ pelas células-T.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar do TT ter sido considerado como menos específico em populações com alta cobertura vacinal ou populações com alto nível de exposição à MNT, em nosso meio, ainda é um bom indicador de TBL, sobretudo pelo baixo custo. A concordância entre o IGRA e o TT foi moderada. Entretanto, o IGRA ainda requer mais avaliação, principalmente em indivíduos que apresentam resultados discordantes. Adicionalmente, o IGRA é um exame dispendioso, não apenas pelo seu alto custo como também pela necessidade de um laboratório especializado, o que limita bastante a adoção desta nova tecnologia em nosso meio. Em termos de custo/benefício, o IGRA, não substitui o TT para o estudo da prevalência e diagnóstico da TBL. Seria necessário demonstrar outra vantagem sobre o TT, o que não se observou neste estudo para justificar o investimento, em particular, dos países em desenvolvimento com alta prevalência de TB.

A prevalência da TBL em comunicantes, de acordo com ambos os testes, foi muito elevada. Indivíduos com resultados TT positivo e IGRA negativo compartilham semelhanças com aqueles com resultados TT positivo e IGRA positivo. Assim esses comunicantes devem ser considerados com TBL e a introdução do tratamento ainda deve ser baseada no resultado do TT.

A dificuldade de transporte urbano é um fator demográfico que influenciou diretamente no abandono do tratamento para TBL e é passível de identificação na primeira entrevista entre o médico e os comunicantes. O tratamento da TBL com H foi bem aceito e, deve ser reforçado como parte do PNCT.

Por fim, os dados apresentados neste estudo mostram que os níveis de IFN- γ aumentam após a conclusão do tratamento, porém, dados conflitantes de outros estudos e as limitações de nosso estudo, não permitem excluir o papel potencial dos IGRAs no monitoramento do tratamento da TBL. Estudos maiores em ambientes de alta transmissão, antes, durante e depois do tratamento, durante um período mais longo, devem ser realizados.

9 LIMITAÇÕES

O IGRA surgiu como um grande avanço no diagnóstico da TBL. Apesar de ser um teste diagnóstico promissor, ainda é necessário cautela antes que este teste seja adotado em substituição ao TT no Brasil. Em um país com limitação de recurso, considerações sobre fatores técnicos e de custos podem favorecer a utilização do TT como teste diagnóstico para a TBL.

O papel das MNT nos resultados do TT e do IGRA não pode ser determinado nessa amostra, pois não é conhecida a prevalência destas infecções na população do nosso meio.

Os comunicantes TT positivos foram tratados com H para a TBL. Assim, a evolução para a doença ativa dos comunicantes com resultados TT positivos e IGRA negativos não pode ser determinada. O acompanhamento por longo período dos indivíduos que apresentem esta associação de resultados deverá definir se o resultado do IGRA negativo, em indivíduos com TT positivo, em regiões de elevada endemicidade da TB, afasta o diagnóstico de TBL.

O número de rotas de ônibus necessárias para o comunicante deslocar-se da sua residência para o HEOM, foi estimado posteriormente, pois esse fato não estava previsto no questionário aplicado inicialmente. A abordagem direta dessa questão certamente fornecerá resultados mais específicos.

O tamanho da amostra dos comunicantes que iniciaram o tratamento pode não ter sido suficiente para revelar efeitos adversos graves e incomuns associado à H.

O fornecimento da H para o tratamento da TBL ocorreu no HEOM, local que poderia ser distante dos domicílios dos comunicantes. A alocação de comunicantes em um serviço de saúde próximo da sua residência poderá melhorar a taxa de comprimento da terapia para TBL.

Nessa amostra não foi feito o teste para detectar o vírus HIV e igualmente os participantes desse estudo não foram diretamente questionados sobre o seu estado sorológico.

Menos da metade dos comunicantes que completaram o tratamento com H retornou para uma segunda coleta de sangue. Não houve diferenças epidemiológicas importantes entre os comunicantes que retornaram após seis meses de acompanhamento e aqueles que não fizeram.

Outra limitação é que a segunda coleta de sangue para a realização do IGRA não foi feita logo após o término do tratamento.

Por fim, este estudo não teve um grupo controle de comunicantes não tratados para a

TBL. A presença deste grupo tornaria possível avaliar melhor o papel modulador da droga sob os níveis de IFN- γ , mas por questões éticas e pela recomendação do PNCT, esse grupo controle não pode ser mantido sem tratamento.

REFERÊNCIAS

ADETIFA, I. M.; LUGOS, M. D.; HAMMOND, A.; JEFFRIES, D.; DONKOR, S.; ADEGBOLA, R. A. et al. Comparison of two interferon-gamma release assays in the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection and Disease in the Gambia. **BMC Infect Dis.**, v.7, p.122, 2007.

AIKEN, A. M.; HILL, P. C.; FOX, A.; MCADAM, K. P. W. J.; JACKSON-SILLAH, D. et al. Reversion of the ELISPOT test after treatment in Gambian tuberculosis cases. **BMC Infectious Diseases**, v.6, p.66, 2006.

ANDERSEN, P.; MUNK, M. E.; POLLOCK, J. M.; DOHERTY, T. M. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. **Lancet**, 23 Set., v.356, p.1099-1104, 2000.

ANDRADE, T. C. B.; MONTEIRO-MAIA, R.; COSGROVE, C.; CASTELLO-BRANCO, L. R. BCG Moreau Rio de Janeiro - An oral vaccine against tuberculosis – Review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.100, n.5, p.459-465, 2005.

AREND, S. M.; THIJSSEN, S. F. T.; LEYTEN, E. M. S.; BOUWMAN, J. J. M.; FRANKEN, W. P. J.; KOSTER, B. F. P. J.; COBELENS, F. G. J.; HOUTE, A. V.; BOSSINK, A. W. J. Comparison of two interferon- γ and tuberculin skin test for tracing tuberculosis contacts. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v.175, p.618-27, 2007.

ATS. American Thoracic Society/ Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. **MMWR**, v.49, p.1–51, 2000.

BARNES, P. F.; ABRAMS, J. S.; LU, S.; SIELIN, P. A.; REA, T. H.; MODLIN, R. L. Patterns of cytokine production by *Mycobacterium*-reactive human T-cell clones. **Infection and Immunity**, v.61, n.1, p. 197-203, 1993.

BEHR, M. A.; HOPEWELL, P. C.; PAZ, E. A. P.; KAWAMURA, L. M.; SCHECTER, G. F.; SMALL, P. M. Predictive Value of Contact Investigation for Identifying Recent Transmission of *Mycobacterium tuberculosis*. **Am J Respir Crit Care Med**, v.158, pp 465–469, 1998.

BEYERS, N.; GIE, R. P.; SCHAAF, H. S.; VAN ZYL, S.; TALENT, J. M.; NEL, E. D.; DONALD, P. R. A prospective evaluation of children under the age of 15 years living in the same household contacts as adults with recently diagnosed pulmonary tuberculosis. **International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v.1, n.1, p.38-43, 1997.

BIANCHI, L.; GALLI, L.; MORIONDO, M.; VENERUSO, G.; BECCIOLINI, L.; AZZARI, C.; CHIAPPINI, E.; DE MARTINO, M. Interferon-gamma Release Assay Improves the Diagnosis of Tuberculosis in Children. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.28, n.6, p.510-514, 2009.

BIERRENBACH, A. L.; FLOYD, S. C.; CUNHA, S. C.; Dourado, I.; BARRETO, M. L.; PEREIRA, S. M.; HIJJAR, S. M.; RODRIGUES, L. C. A comparison of dual skin test with mycobacterial antigens and tuberculin skin test alone in estimating prevalence of *Mycobacterium tuberculosis* infection from population surveys. **International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v.7, n.4, p.312-319, 2003.

BOSSHARD, V.; ROUX-LOMBARD, P.; PERNEGER, T.; METZGER, M.; VIVIEN, R. et al. Do results of the T-SPOT.TB interferon-g release assay change after treatment of tuberculosis? **Respiratory Medicine**, v.103, p.30-4, 2009.

BROCK, I.; WELDINGH, K.; LILLEBAEK, T.; FOLLMANN, F.; ANDERSEN, P. Comparison of Tuberculin Skin Test and New Specific Blood Test in Tuberculosis Contacts. **Am J Respir Crit Care Med**, v.170, p.65-69, 2004.

BRUZZESE, E.; BCCHINO, M.; ALESSIO, L. R. A. M.; BELLOFIORE, B.; BRUZZESE, D.; LORIO, R.; MATARESE, A.; SANTORO, G.; GUARINO, P. V. A.; SANDUZZI, A. Gamma interferon release assays for diagnosis of tuberculosis infection in immunocompromised children in a country in which the prevalence of tuberculosis is low. **Journal of Clinical Microbiology**, v.47, n.7, p.2355-57, 2009.

BURRIL, J.; WILLIAMS, C. J.; BAIN, G.; CONDER, G.; HINE, A. L.; MISRA, R. R. Tuberculosis: a radiologic review. **Radiographics**, v.27, n.5, p.1255-73, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. II Consenso Brasileiro de Tuberculose. Diretrizes Brasileiras para Tuberculose 2004. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Ribeirão Preto, v.30, n.1, p.4-5, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. III Diretrizes para Tuberculose da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Ribeirão Preto, v.35, n.10, p.1018-48, 2009.

CARRARA, S.; VINCENTI, D.; PETROSILLO, N.; AMICOSANTE, M.; GIRADI, E.; GOLETTI, D. Use of a T Cell-Based Assay for monitoring efficacy of antituberculosis therapy. **Clin Infect Dis**, v.38, n.5, p.754-6, 2004.

CARVALHO, A. C. C.; DERIEMER, K.; NUNES, Z. B.; MARTINS, M.; COMELLI, M.; MARINONI, A.; KRITSKI, A. L. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* to Contacts of HIV-infected Tuberculosis Patients. **Am J Respir Crit Care Med**, v.164, p.2166–2171, 2001.

CHAN, E. D.; CHAN, J.; SCHLUGER, N. W. What is the role of nitric oxide in murine and human host defense against tuberculosis? **American Journal of respiratory Cell and Molecular Biology**, v.25, p.606-612, 2001.

CHEE, C. B. E.; GAN, S. H.; KHINMAR, K. W.; BARKHAM, T. M.; KOH, C. K.; LIANG, S.; WANG, Y. T. Comparison of Sensitivities of Two Commercial Gamma Interferon Release Assays for Pulmonary Tuberculosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v.46, n.06, p.1935–1940, 2008.

CHEE, C. B. E.; BARKHAM, T. M. S.; KHINMAR, K. W.; GAN, S. H.; WANG, Y. T. Quantitative T-cell interferon-gamma responses to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens in active and latent tuberculosis. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v.28, p.667–70, 2009.

COOPER, A. M.; DALTON, D. K.; STEWART, T. A.; GRIFFEN, J. P.; RUSSELL, D. G.; ORME, I. M. Disseminated tuberculosis in IFN- γ gene disrupted mice. **The Journal of Experimental Medicine**, v.178, p.2243-2248, 1993.

DANIEL, T. M. The history of tuberculosis. **Respiratory Medicine**, v.100, p.1862-1870, 2006.

DATASUS. Banco de Dados do Sistema Único de Saúde. Disponível em: www.datasus.gov.br. Acessado em 05 de Janeiro de 2011.

DAVIDOW, A. L. Interferon-gamma release assay test characteristics depend upon the prevalence of active tuberculosis. **Int J Tuberc Lung Dis**, v.13, n.11, p.1411–1415, 2009.

DHEDA, K.; SMIT, R. Z.; BADRI, M.; PAI, M. T-cell interferon-g release assays for the rapid immunodiagnosis of tuberculosis: clinical utility in high-burden vs low-burden settings. **Current Opinion in Pulmonary Medicine**, v.15, p.188-200, 2009.

DIEL, R.; LODDENKEMPER, L.; MEYWALD-WALTER, K.; NIEMANN, S.; NIENHAUS, A. Predictive Value of a Whole Blood IFN-g Assay for the Development of Active Tuberculosis Disease after Recent Infection with *Mycobacterium tuberculosis*. **Am J Respir Crit Care Med**, v.177, p.1164–1170, 2008.

DOMÍNGUEZ, J.; MANZANO, J. R.; SOUZA-GALVÃO, M.; LATORRE, I.; MILA, C.; BLANCO, S.; JIMÉNEZ, M. A.; PRAT, C.; LACOMA, A.; ALTET, N.; AUSINA, V. Comparison of Two Commercially Available Interferon-Gamma Blood Tests for immunodiagnosis of Tuberculosis. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.15, n.1, p.168–171, 2008.

DYE, C.; SCHEELE, S.; DOLIN, P.; PATHANIA, V.; RAVIGLIONE, M. CGlobal Burden of Tuberculosis: Estimated Incidence, Prevalence, and Mortality by Country. **JAMA**, v.282, n.7, p.677-686, 1999.

EWER, K.; MILLINGTON, K. A.; DEEKS, J. J.; ALVAREZ, L.; BRYANT, G.; LALVANI, A. Dynamic antigen-specific T-cell responses after point-source exposure to *Mycobacterium tuberculosis*. **Am J Respir Crit Care Med**, v.174, p.831–9, 2006.

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

FLORIDO, M.; COOPER, A. M.; APPELBERG, R. Immunological basis of the development of necrotic lesions following *Mycobacterium avium* infection. **Immunology**, v. 106, p.590-601, 2002.

FLOYD, S.; PONNIGHAUS, J. M.; BLISS, L.; NKHOSA, P.; SICHALI, L.; MSISKA, G.; FINE, P. E. Kinetics of delayed-type hypersensitivity to tuberculin induced by bacille Calmette-Guérin vaccination in northern Malawi. **Journal Infectious Diseases**, v.186, n.6, p.807-814, 2002.

FLYNN, J. L.; CHAN, J.; TRIEBOLD, K. J.; DALTON, D. K.; STEWART, T. A.; BLOOM, B. R. An Essential Role for Interferon in Resistance to *Mycobacterium tuberculosis* Infection. **The Journal of Experimental Medicine**, v.178, p.2249-2254, 1993.

FLYNN, J. L.; GOLDSTEIN, M.; CHAN, J.; TRIEBOLD, K.; PFEFFER, K. LOWESTEIN, C. S; CHREIBER, R.; MAK, T. W.; BLOOM, B. R. Tumor necrosis factor alpha is required in the protective immune response against *Mycobacterium tuberculosis* in mice. **Immunity**, v.2, p.251-72, 1995.

FLYNN, J. L.; CHAN, J. Tuberculosis: Latency and Reactivation. **Infection and Immunity**. v.69, p.4195-4201, 2001.

HENDERSON, R.A.; WATKINS, S. C.; FLYNN, J. L. Activation of human dendritic cells following infection with *Mycobacterium tuberculosis*. **The Journal of Immunology**, n.159, p.635-643, 1997.

HIGUSHI, K.; HARADA, N.; MORI, T. Interferon-g responses after isoniazid chemotherapy for latent tuberculosis. **Respirology**, v.13, p.468-472, 2008.

HIJJAR, M. A.; PROCOPIO, M. J.; OLIVEIRA, R.; TEIXEIRA, G. M. A tuberculose no Brasil e no mundo. **Boletim de Pneumologia Sanitária**, v.9, n.2, 2001.

JOHNSTON, B. J.; CONLY, J. M. Re-examining treatment of latent tuberculosis infection. **Can J Infect Dis.**, v.12, n.4, p.211-4, 2001.

JOUANGUY, E.; ALTARE, F.; LAMHAMEDI, S. PATRICK, R.; EMILE, J. F.; NEWPORT, M.; LEVIN, M.; BLANCHE, S.; SEBOUN, E.; FISCHER, A.; CASANOVA, J. L. Interferon-g-receptor deficiency in an infant with fatal bacille Calmette-Guérin infection. **The New England Journal Medicine**, v.335, p.1956, 1996.

KABEER, B. S. A.; RAMAN, B.; THOMAS, A.; PERUMAL, V.; RAJA, A. Role of QuantiFERON-TB Gold, Interferon Gamma Inducible Protein-10 and Tuberculin Skin Test in Active Tuberculosis Diagnosis. **PlosOne**, v.5, issue2, e9051, 2010.

KANG, Y. A.; LEE, H. W.; YOON, H.; CHO, B.; HAN, S. K.; SHIM, Y. S.; 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, p.2746-2785, 2005.

KEANE, J.; GERSHON, S.; WISE, R. P.; MIRABILE-LEVENS, E.; KASZNICA, J.; SCHWIETERMAN, W. D.; SIEGEL, J. N.; BRAUN, M. M. Tuberculosis associated with infliximab: a tumor necrosis factor neutralizing agent. **The New England Journal Medicine**, v.345, p.1098-1104, 2001.

KOBASHI, Y.; MOURI, K.; YAGI, S.; OBASE, Y.; MIYASHITA, N. et al. Transitional changes in T-cell responses to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens during treatment. **Journal of Infection**, v.58, p.197-204, 2009.

KRITSKI, A. L.; CONDE, M. B.; DE SOUZA, G. R. M. **Tuberculose: do ambulatório à enfermaria**. São Paulo: Atheneu, 2000.

LADEL, C. H.; SZALAY, G.; RIEDEL, D.; KAUFMANN, S. H. E. Interleukin-12-secretion by *Mycobacterium tuberculosis* - Infected macrophages. **Infection and Immunity**, n.65, p.1936-1938, 1997.

LALVANI, A. Counting Antigen-Specific T Cells: A New Approach for Monitoring Response to Tuberculosis Treatment? **Clinical Infectious Diseases**, v.38, p.757-9, 2004.

LEE, E.; HOLZMAN, R. S. Evolution and current use of the tuberculin test. **Clinical Infectious Diseases**, v.34, p.365-370, 2002.

LEMONS, A. C.; MATOS, E. D.; PEDRAL-SAMPAIO, D. B.; NETO, E. M. Risk of Tuberculosis among household contacts in Salvador, Bahia. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 8 Dez., v.8, n.6, p.424-430. 2004.

LEYTEN, E. M. S.; PRINS, C.; BOSSINK, A. W. J.; THIJSEN, S.; OENHOFF, T. H. M.; VAN DISSEL, J. T.; AREND, S. M. Effect of tuberculin skin testing on a *Mycobacterium tuberculosis*-specific interferon- γ assay. **Euro Resp J**, v.29, p.1212-1216, 2007.

LOBUE, P. A.; MOSER, K. S. Use of Isoniazid for Latent Tuberculosis Infection in a Public Health Clinic. **Am J Respir Crit Care Med**, v.168, p.443-447, 2003.

MAARTENS, G.; WILKINSON, R. J. Tuberculosis. **Lancet**, n.370, v.2030-43, 2007.

MACHADO Jr, A.; EMODI, K.; TAKENAMI, I.; FINKMOORE, B. C.; BARBOSA, T.; CARVALHO, J.; CAVALCANTI, L.; SANTOS, G.; TAVARES, M.; MOTA, M.; BARRETO, F.; REIS, M. G.; ARRUDA, S.; RILEY, L. W. Analysis of discordance between the tuberculin skin test and the interferon-gamma release assay. **International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v.13, n.4, p.446-453, 2009a.

MACHADO, A.; FINKMOORE, B.; EMODI, K.; TAKENAMI, I.; BARBOSA, T.; TAVARES, M.; REIS, M. G.; ARRUDA, S.; RILEY, L. W. Risk factors for failure to complete a course of latent tuberculosis infection treatment in Salvador, Brazil. **Int J Tuberc Lung Dis**, v.13, n.6, p.719-25, 2009b.

MANDELL, G.L., PETRI JR., W.A. Antimicrobial agents. In: HARDMAN, J.G., LIMBIRD, L.E., MOLINOFF, P.B. et al. **The pharmacological basis of therapeutics**, v.44, p.1057-1072, 1996.

MARAIS, B. J.; VAN ZYL, S.; SCHAAF, H. S.; VAN AARDT, M.; GIE, R. P.; BEYERS, N. Adherence to isoniazid preventive chemotherapy: a prospective community based study. **Arch Dis Child**, v.91, n.9, p.762-5, 2006.

MARIANO, M. The experimental granuloma. A hypothesis to explain the persistence of the lesion. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v.37, n.2, p.161-76, 1995.

MAZUREK, G. H.; LOBUER, P. A.; DALEY, C. L.; BERNARDO, J.; LARDIZABAL, A. A.; BISHAI, W. R.; IADEMARCO, M. F.; ROTHEL, J. S. Comparison of a whole-blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detecting latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. **JAMA**, 10 Oct., v.286, n.14, p.1740-1747, 2001.

MENZIES, D.; JOSHI, R.; PAI, M. Risk of tuberculosis infection and disease associated with work in health care settings. **Int J Tuberc Lung Dis.**, v.11, n.6, p.593-605, 2007.

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.; MAZUREK, G. H.; TSUYUGUCHI, I. Specific detection of tuberculosis infection; an interferon-g based assay using new antigens. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v.170, p.59-64, 2004.

MORRISON, J.; PAI, M. HOPWELL, P. C. Tuberculosis and latent tuberculosis infection in close contacts of people with pulmonary tuberculosis in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. **Lancet Infect Dis**, v.8, n.6, p.359-68, 2008.

NEWPORT, M. J.; HUXLEY, C. M.; HUSTON, S.; HAWRYLOWICZ, C. M.; OOTRA, B. A.; WILLIAMSON, R.; LEVIN, M. A mutation in the interferon-gamma-receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. **The New England Journal Medicine**, v.335, n.26, p.1941-9, 1996.

NIENHAUS, A.; SCHABLON, A.; DIEL, R. Interferon-Gamma Release Assay for the Diagnosis of Latent TB Infection - Analysis of Discordant Results, when Compared to the Tuberculin Skin Test. **PLoS ONE**, v.3, n.7, e2665, 2008.

NORTH, R. J.; JUNG, Y. J. Immunity to Tuberculosis. **Annual Review of Immunology**, n.22, p.599-623, 2004.

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

PAGE, K. R.; SIFAKIS, F.; MONTES DE OCA, R, CRONIN, W. A.; DOHERTY, M. C.; FEDERLINE, L., et al. Improved adherence and less toxicity with rifampicin vs isoniazid for treatment of latent tuberculosis: a retrospective study. **Arch Intern Med**, v.166, n.17, p.1863-70, 2006.

PAI, M.; RILEY, L. W.; COLFORD JR, J. M. Interferon-g assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. **Lancet Infectious Disease**, v.4, p.761–776, 2004.

PAI, M.; GOKHALE, K.; JOSHI, R.; DOGRA, S.; KALANTRI, S.; MENDIRATTA, D. K.; NARANG, P.; DALEY, C. L.; GRANICHI, R. M.; MAZUREK, G. H.; REINGOLD, A. L.; RILEY, L. W.; COLDFORD JR, J. M. Mycobacterium tuberculosis infection in health care workers in rural India: comparison of a whole-blood interferon-g assay with tuberculin skin testing. **JAMA**, v.293, p.2746–2755, 2005.

PAI, M.; JOSHI, R.; DOGRA, S.; MENDIRATTA, D. K.; NARANG, P. et al. Persistently elevated T cell interferon- γ responses after treatment for latent tuberculosis infection among health care workers in India: a preliminary report. **J Occup Med Toxicol**, v.1, p.7, 2006.

PAI, M.; ZWERLING, A.; MENZIES, D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. **Ann Intern Med.**, v.149, n.3, p.177-8, Epub 2008.

PALAZZO, R.; SPENSIERI, F.; MASSARI, M.; FEDELE, G.; FRASCA, L.; CARRARA, S.; GOLETTI, D.; AUSIELLO, C. M. Use of Whole-Blood Samples in In-House Bulk and Single-Cell Antigen-Specific Gamma Interferon Assays for Surveillance of *Mycobacterium tuberculosis* Infections. **Clinical and vaccine immunology**, v.15, n.2, p.327–337, 2008.

PARRISH N M; DICK J D; BISHAI W R, Mechanisms of latency in *Mycobacterium tuberculosis*. **Trends Microbiol**, v.6, p.107–112, 1998.

PORSA, E.; CHENG, L.; SEALE, M. M. et al. Comparison of a new ESAT-6/CFP-10 peptide-based gamma interferon assay and a tuberculin skin test for tuberculosis screening in a moderate-risk population. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.16, p.53-58, 2006.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.586-593.

RIBEIRO, S.; DOOLEY, K.; HACKMAN, J.; LOREDO, C.; EFRON, A. et al. T-SPOT.*TB* responses during treatment of pulmonary tuberculosis. **MC Infectious Diseases**, v.9, p.23, 2009.

- RIEDER HL, CAUTHEN GM, COMSTOCK GW, ET AL: Epidemiology of tuberculosis in the United States. **Epidemiol Rev**, v.11, p.79-98, 1989.
- ROACH, D. R.; BEAN, A. G. D.; DEMANGEL, C.; FRANCE, M. P.; BRISCOE, H.; BRITTON, W. J. TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of mycobacterial infection. **The Journal of Immunology**, n.168, p.4620-4627, 2002.
- SARINHO, E.; PONTUAL, M.; CARVALHO, M. R. C.; COSTA, M. J. H. Viragem tuberculínica pós-vacinal com PPD derivado de BCG. **Bol of Saint Panam**, v.111, n.5, p.402-405, 1991.
- SASS P. Tuberculosis infection and disease in children. **Am Fam Physician**, v.53, p.2087-94, 1996.
- SAUZULLO, I.; MENGONI, F.; LICHTNER, M.; MASSETTI, A. P.; ROSSI, R. et al. In Vivo and In Vitro Effects of Antituberculosis Treatment on Mycobacterial Interferon-gamma T Cell Response. **Plos One**, v.4, e5187, 2009.
- SMIEJA, M. J.; MARCHETTI, C. A. COOK, D. J.; SMAILL, F. M. Isoniazid for preventing tuberculosis in non-HIV infected persons. **Chochrane Database Syst Ver**, v.2, CD001363, 2000.
- SOINI, H.; MUSSER, J. M. Molecular diagnosis of mycobacteria. **Clinical Chemistry**, Washington, v.47, p.809-814, 2001.
- TAKAYAMA, K.; SCHINOES, H. K.; ARMSTRONG, E. L.; BOYLE, R. W. Site of inhibitory action of isoniazid in the synthesis of mycolic acids in *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal of Lipid Research**, v.16, p.308-317, 1975.
- THOMPSON, N. J. Efficacy of various durations of isoniazid preventive therapy for tuberculosis: five years of follow-up in the IUAT trial. **Bulletin of the World Health Organization**, v.60, n.4, p.555- 564, 1982.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**, 6ª edição, Artmed, Porto Alegre, 2000, p.637-641
- TSIOURIS, S. J. ; COETZEE, D. ; TORO, P. L. et al. Sensitivity analysis and potential uses of a novel gamma interferon release assay for diagnosis of tuberculosis. **Journal Clinical Microbiology**, v.44, p.2844-2850, 2006.

TUFARIELLO, J. M.; CHAN, J.; FLYNN, J. L. Latent tuberculosis: mechanisms of host and bacillus that contribute to persistent infection. **The Lancet Infectious Diseases**, v.3, p. 578-590, 2003.

VAN ZYL-SMIT, R. N.; PAI, M.; PEPRAH, K.; MELDAU, R.; KIECK, J.; JURITZ, J.; BADRI, M.; ZUMLA, A.; SECHI, L. A.; BATEMAN, E. D.; DHEDA, K. Within-Subject variability and boosting of T cell IFN-gamma responses following tuberculin skin testing. **Am J Respir Crit Care Med**, v.180, p.49-58, 2009a.

VAN ZYL-SMIT, R. N.; ZWERLING, A.; DHEDA, K.; PAI, M. Within-Subject variability of interferon-g assay results for Tuberculosis and boosting effect of tuberculin skin testing: a systematic review. **Plos One**, v.4, e8517, 2009b.

WANG, L.; TURNER, M. O.; ELWOOD, R. K.; SCHULZER, M.; FITZGERALD, J. M. A meta-analysis of the effect of Bacille Calmette Guérin vaccination on tuberculin skin test measurements. **Thorax**, v.57, p.804–809, 2002.

WHALEN, C. C. Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection: Measure for Measure. **JAMA**, June 8, v.293, n.22, p.2785-2787, 2005.

WHALEN, C. C.; CHIUNDA, A.; ZALWANGO, S.; NSHUTI, L.; JONES-LOPEZ, E.; OKWERA, A.; HIRSCH, C.; PETERS, P.; BOOM, W. II.; MUGERWA, R. D. Immune correlates of acute mycobacterium tuberculosis infection in household contacts in Kampala, Uganda. **Am J Trop Med Hyg**, v.75, n.1, p.55–61, 2006.

WILKINSON, K. A.; KON, O. M.; NEWTON, S. M.; GAN, S. H.; BARKHAM, T. M, S, et al. Effect of Treatment of Latent Tuberculosis Infection on the T Cell Response to *Mycobacterium tuberculosis* Antigens. **J Infect Dis**, v.193, p.354–9, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing: WHO report 2008**. WHO, Geneva, Switzerland. Disponível em: <http://www.who.int/tb/publications/global/>. Acesso em: 28 set. 2010

Apêndice 01

ANÁLISE DA DISCORDÂNCIA ENTRE O TESTE TUBERCULÍNICO E O ENSAIO DE LIBERAÇÃO DE INTERFERON-GAMA

Artigo publicado: MACHADO JR, A.; EMODI, K.; TAKENAMI, I.; FINKMOORE, B. C.; BARBOSA, T.; CARVALHO, J.; CAVALCANTI, L.; SANTOS, G.; TAVARES, M.; MOTA, M.; BARRETO, F.; REIS, M. G.; ARRUDA, RILEY, L. W. Analysis of discordance between the tuberculin skin test and the interferon-gamma release assay. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, 13(4):446-453, 2009.

Analysis of discordance between the tuberculin skin test and the interferon-gamma release assay

A. Machado Jr,*¹ K. Emodi,[†] I. Takenami,* B. C. Finkmoore,[‡] T. Barbosa,[§] J. Carvalho,* L. Cavalcanti,* G. Santos,* M. Tavares,* M. Mota,* F. Barreto,* M. G. Reis,*[¶] S. Arruda,*^{**} L. W. Riley[†]

*Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, Bahia, [†]Hospital Especializado Octávio Mangabeira, Salvador, Bahia, Brazil; [‡]School of Public Health, University of California, Berkeley, California, USA; [§]Laboratório Integrado de Microbiologia e Imunorregulação, Salvador, Bahia, [¶]Laboratório de Patologia e Biologia Molecular, ^{**}Laboratório Avançado de Saúde Pública, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, Bahia, Brazil

SUMMARY

OBJECTIVE: To analyze factors associated with discordance between tuberculin skin test (TST) and interferon-gamma release assay (IGRA) results among household contacts of pulmonary tuberculosis (PTB) patients.

DESIGN: TST (purified protein derivative) and IGRA (QuantiFERON[®]-TB Gold) were performed on household contacts of PTB patients diagnosed between 2006 and 2007 in Salvador, Brazil. Discordant test groups were compared with the TST-/IGRA- group.

RESULTS: Of 261 household contacts satisfactorily tested by TST, 145 (55.6%) had positive TST results; of 298 satisfactorily tested by IGRA, 127 (43.1%) had positive results. The test agreement was 0.76 ($\kappa = 0.53$, 95%CI 0.43–0.63). Sixty-one (24%) were discordant: 44 (72%) with TST+/IGRA- and 17 (28%) with TST-/IGRA+ results. Compared to the TST-/IGRA- group,

the TST+/IGRA- and TST+/IGRA+ groups were significantly more likely to have a chest X-ray showing old lung scars (OR = 6.8, 95%CI 1.3–35.0; OR = 7.4, 95%CI 2.2–24.4, respectively). The TST-/IGRA+ group was exposed to their index cases for significantly longer than the TST-/IGRA- group (OR = 7.2, 95%CI 1.7–29.3).

CONCLUSION: The TST+/IGRA- and TST+/IGRA+ groups shared more similar characteristics with each other than with the TST-/IGRA- group. In a setting endemic for TB, TST results appear to be more suitable in the decision to treat latent TB infection.

KEY WORDS: latent tuberculosis infection; interferon-gamma release assay; tuberculin skin test; household contacts

BRAZIL has the highest number of reported tuberculosis (TB) cases in South America, with an incidence ranging from 50 to 80 cases per 100 000 population between 1996 and 2006.^{1,2} Close and prolonged contact with pulmonary TB (PTB) patients increases the risk of infection.^{3,4} In Brazil, severe cases of TB are often hospitalized; these represent about 14% of PTB disease in the country.² Data about the prevalence of latent TB infection (LTBI) in household contacts of such hospitalized TB patients are limited.

Until recently, the tuberculin skin test (TST) with an intradermal injection of purified protein derivative (PPD) was the only test widely used to detect LTBI. Although simple and inexpensive, the TST lacks specificity for *Mycobacterium tuberculosis* infection.^{5,6} Previous exposure to non-tuberculous mycobacteria and bacille Calmette-Guérin (BCG) vaccination can influence TST results.^{5,7} Patients must also return 48–72 h later to have the test results read. Despite these limitations, the TST remains the test most commonly used to initiate preventive treatment.^{8,9}

Interferon-gamma release assays (IGRAs) are based on interferon-gamma (IFN- γ) secretion by lymphocytes exposed to *M. tuberculosis*-specific antigens encoded by the region of difference 1 (RD1)—early secreted antigenic target 6 (ESAT-6) and culture filtrate protein 10 (CFP-10).^{10,11} Recently, a commercial test kit, QuantiFERON[®]-TB Gold (Cellestis, Carnegie, VIC, Australia) containing these two proteins, was approved for use in LTBI diagnosis in the United States.¹¹

A recent meta-analysis that compared TST and IGRA showed that IGRA has a high specificity and that it is unaffected by BCG vaccination.⁶ Most studies have shown agreement between TST and IGRA to range from 60% to 80%.^{5,12} A substantial proportion of the test results are therefore discordant. When an individual has a positive TST result and a negative IGRA result, the discordance is often attributed to BCG vaccination. There is little evidence to support the influence of BCG on test discordance. In countries that have routine contact tracing programs, assessment

of LTBI is important because the decision to initiate LTBI treatment of contacts depends on the accuracy of these tests. Because TST-positive test results are used in the decision to initiate LTBI treatment, it is not clear what should be done for those who also test negative on IGRA. No studies comparing TST and IGRA in high-risk populations report systematic analyses of discordant test results.

We focused on household contacts of index cases of TB in Salvador, Brazil, because they represent a uniform group (similar age and ethnic distribution, low prevalence of human immunodeficiency virus [HIV] infection, high BCG coverage) at high risk for LTBI who are prime candidates for treatment. To date, only a small number of studies have examined the prevalence of LTBI among close contacts of index TB cases by comparing TST and IGRA.^{13,14} Analysis of household contacts of these index cases thus provided an opportunity to evaluate factors associated with discordant results of the two tests.

METHODS

Setting

We conducted a cross-sectional study from November 2006 to October 2007 at the Hospital Especializado Océvio Mangabeira (HEOM) in Salvador, Bahia, Brazil, a 217-bed public chest disease hospital. Salvador is the capital of Bahia, with a population of 2 714 018 in 2006,¹⁵ and has one of the highest TB incidence rates in Brazil.²

Study participants

The study was approved by the respective human subjects committees of Oswaldo Cruz Foundation in Salvador, Brazil, and the University of California at Berkeley, USA. Informed consent was obtained from all study subjects who agreed to participate in the study. There were no payments for transport or reimbursement for study participation.

Index cases

Index cases were defined as hospitalized patients with symptoms consistent with TB and one or more of the following characteristics: 1) chest radiography (CXR) suggestive of TB opacities, 2) sputum samples that contained acid-fast bacilli on microscopy, 3) individuals who responded to anti-tuberculosis drugs. CXR was classified as 1) cavitory disease, when cavitory densities were observed surrounded by pulmonary infiltration; 2) without cavity, when pulmonary infiltration but no cavity was observed; or 3) normal, when no pulmonary lesion was seen. Sputum was analyzed using the Ziehl-Neelsen staining method and classified as negative, 1+, 2+, or 3+.¹⁶

Household contacts

Contacts who resided in the same household and spent at least 100 h with the index case during the latter's

symptomatic period were considered household contacts and were invited to participate in the study.¹⁷

Data collection

Household contacts who enrolled underwent TST, blood tests and CXR and were interviewed by members of the study team (AM, KE, IT). A standardized questionnaire was used to collect interview data. Study participants were asked about their current use of medications and diabetes status. Study participants were not directly asked about their HIV status nor were the data sought from clinic charts. All of the household contacts were directly examined for BCG scar by a chest physician on the research team (AM).

Laboratory tests

CXRs were reviewed by a chest physician on the research team (AM). TST was performed by trained nursing staff at HEOM with 0.1 ml of PPD RT23 (2 tuberculin unit [TU], Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark). The reaction was read 72 h later (AM). The cut-off point for a positive reaction was ≥ 10 mm induration because this is the cut-off used in the decision to initiate LTBI treatment in Brazil.⁹

The IGRA used was a whole blood assay, the QuantiFERON[®]-TB Gold In-Tube kit, performed according to the manufacturer's recommendations at the immunology laboratory at Gonçalo Moniz Research Centre.¹⁸ A positive test was defined as IFN- γ blood concentration ≥ 0.35 international units (IU)/ml. Samples with indeterminate IGRA results were re-processed. Samples with two indeterminate IGRA results were excluded from analysis.

Statistics

The data were analyzed using STATA 10.0 Intercooled (Stata Corp, College Station, TX, USA). Agree-

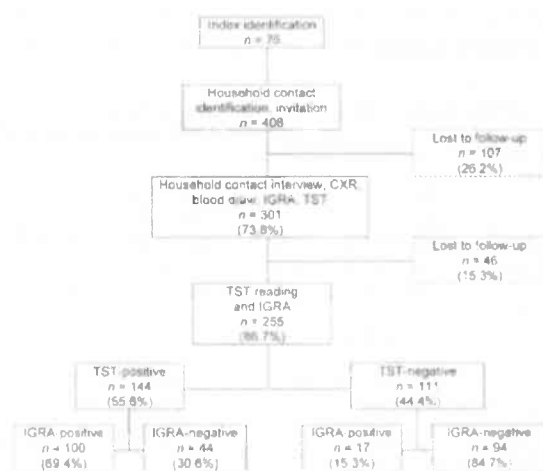


Figure Flowchart of recruitment into study. CXR = chest X-ray, IGRA = interferon-gamma release assay, TST = tuberculin skin test.

Table 1 Characteristics of 76 pulmonary tuberculosis patients and their households

Characteristic	n (%)
Age, years	
0–14	2 (3)
≥15	74 (97)
Male sex	44 (58)
History of tuberculosis*	16 (23)
CXR†	
Cavities	42 (63)
No cavities	24 (36)
Normal	1 (2)
Sputum density of index	
1+	31 (41)
2+	14 (18)
3+	26 (34)
Negative	2 (3)
Not available‡	3 (4)
Household size	
Median number of members per household	4.0
Median number of people per room	1.2
Median household dimension, m ² §	60
Median number of rooms per household	4.0
Type of building	
Finished walls and tile roof	75 (99)
Wood frame with zinc roof, unfinished sides	1 (<1)
Household amenities	
Running water inside the house	75 (99)
Electricity	76 (100)
Toilet inside the house	74 (98)
Formal garbage collection service	73 (96)

* Data not available for five index cases.

† CXR not available for nine index cases.

‡ Two patients were aged < 5 years and samples could not be obtained; one patient did not yield a sputum sample.

§ Forty-six households reported the dimensions of their household. CXR = chest radiograph.

ment between the TST and IGRA results was assessed by the kappa statistic (κ). The discordant groups (TST+/IGRA-; TST-/IGRA+) and the concordant positive group (TST+/IGRA+) were each compared with the reference group (TST-/IGRA-). Multivariate logistic regression models were created in STATA (Stata Corp). The models were adjusted for clustering by household with a robust variance estimator, which also corrects for multiple testing of variables.

Table 3 Median values of principal characteristics of household contacts: the positive concordant (TST+/IGRA+) group and the discordant groups (TST+/IGRA- and TST-/IGRA+) compared to the reference group (TST-/IGRA-)

Characteristic	Reference group	TST+/IGRA+ (n = 100) median (IQR)	P value*	TST+/IGRA-	P value*	TST-/IGRA+	P value*
	TST-/IGRA- (n = 94) median (IQR)			(n = 44) median (IQR)		(n = 17) median (IQR)	
Age, years	22 (9–36)	30 (15–45)	0.01	21 (13–41)	0.57	37 (20–57)	0.02
Monthly family income, USD	422 (422–533)	422 (422–533)	0.86	422 (422–533)	0.57	422 (422–533)	0.52
Index sputum density	1+ (1–3)	2+ (1–3)	0.94	2+ (1–3)	0.43	1+ (1–3)	0.91
Number of rooms in household	4 (4–5)	4 (3–5)	0.12	4 (4–4)	0.21	4 (3–6)	0.97
Number of people in household	49 (3–6)	4 (3–6)	0.35	4 (3–6)	0.21	4 (3–10)	0.51
Household dimension, m ² †	70 (40–88)	50 (23–72)	0.01	60 (21–68)	0.03	60 (35–81)	0.47
Crowding index‡	0.08 (0.05–0.13)	0.10 (0.06–0.20)	0.02	0.08 (0.05–0.15)	0.45	0.12 (0.06–0.18)	0.14
TST induration diameter, mm	0 (0–4)	16 (14–19)	<0.01	13 (12–16)	<0.01	6 (0–8)	0.01
IFN- γ blood level, IU/ml	0.0 (0.0–0.06)	4.48 (1.63–8.08)	<0.01	0.04 (0.03–0.14)	<0.01	0.75 (0.56–2.21)	<0.01

* P values based on the Mann-Whitney test.

† Forty-six households reported household dimensions.

‡ Number of people in the household per m².

TST = tuberculin skin test; IGRA = interferon-gamma release assay; IQR = interquartile range.

Table 2 Characteristics of 301 household contacts of 76 pulmonary tuberculosis patients

Characteristic	n (%)
Age, years	
0–14	83 (28)
≥15	218 (72)
Female sex	181 (60)
BCG scar*	
Present	228 (76)
Absent	72 (24)
Household contact CXR†	
Normal	253 (89)
Old scar	31 (11)
Relationship to index case	
Sibling	51 (17)
Daughter/son	49 (16)
Parent	39 (13)
Uncle/aunt	30 (10)
Spouse	25 (8)
Other	81 (27)
Contact sleeps in same room as index case	82 (28)

* Data not available for one contact.

† CXR not available for nine index cases, representing 17 household contacts. BCG = bacille Calmette-Guérin; CXR = chest radiograph.

RESULTS

Index cases

Between 30 October 2006 and 30 August 2007, 76 hospitalized patients with active TB, representing 76 distinct households, were recruited into this study as index cases (Figure, Table 1).

Household contacts

Of the 408 eligible household contacts identified by index cases, 301 (74%) were enrolled in this study (Tables 2 and 3). BCG scar was present in 228 (76%). The median age was 22.0 years (interquartile range [IQR] 12–37) among those with BCG scar and 33.5 years (IQR 24.3–52.8) in those without ($P < 0.01$). During the initial evaluation of the household contacts, active TB was diagnosed in two (0.7%) of 301 individuals, as evidenced by their clinical presenta-

tion and response to anti-tuberculosis drugs. Of 294 study participants who were asked about diabetes, seven (2%) said they had been previously diagnosed. None of the study participants were on antiretroviral treatment.

TST results

Valid TST results were available for 261 (86.7%) of the 301 household contacts. At a cut-off of ≥ 10 mm induration, 145 (55.6%) of 261 household contacts had positive TST results. The remainder did not return to have the test read.

IGRA results

Valid IGRA results were available for 298 (99%) of the 301 household contacts. Three contacts had duplicate indeterminate IGRA results. Blood samples could not be obtained from three infants and IGRA was not conducted. At a cut-off point of ≥ 0.35 IU/ml, 127 (43.1%) of 298 household contacts had positive IGRA results.

Agreement between TST and IGRA results

Data on agreement between the TST and IGRA results were available for 255 (84.7%) of the 301 household contacts. Of these, 100 (39.2%) had concordant positive

results (TST+/IGRA+) and 94 (36.8%) had concordant negative results (TST-/IGRA-). At a cut-off point of ≥ 10 mm induration for a positive TST and ≥ 0.35 IU/ml for IGRA, the agreement between tests was 0.76 ($\kappa = 0.53$; 95% confidence interval [CI] 0.43–0.63).

Discordant groups

Among the 255 household contacts with valid results by both tests, 61 (24%) had discordant results; 44 (72%) were TST+/IGRA- and 17 (28%) were TST-/IGRA+.

TST+/IGRA-

The median age of individuals with TST+/IGRA- results was 21 years (IQR 13–41) compared to 22 years for those with TST-/IGRA- results (IQR 9–36, $P = 0.57$; Table 3). The median household dimension was 60 m² (IQR 21–68) for individuals with TST+/IGRA- results and 70 m² for individuals with TST-/IGRA- results (IQR 40–88, $P = 0.03$).

Household contacts with TST+/IGRA- results were 6.8 times more likely to have a CXR showing old lung scar than those with TST-/IGRA- results, after adjusting for all other covariates (odds ratio [OR] 6.8, 95% CI 1.3–35, $P = 0.02$; Table 4). The median

Table 4 Principal covariates associated with discordant test results: the TST+/IGRA- group compared to the reference group (TST-/IGRA-); cut-off: TST ≥ 10 mm, IGRA ≥ 0.35 IU/ml

Covariate	Reference group		OR (95% CI)	P value*	aOR† (95% CI)	P value*
	TST+/IGRA- n/N	TST-/IGRA- n/N				
Age, years						
≤ 10	6/44	24/94	0.5 (0.2–1.2)		0.2 (0.04–1.5)	
> 10	38/44	70/94	1.0	0.12	1.0	0.14
Sex						
Male	16/44	39/94	0.8 (0.4–1.7)		1.3 (0.5–3.2)	
Female	28/44	55/94	1.0	0.57	1.0	0.54
BCG scar						
Present	38/44	73/94	1.8 (0.7–4.9)		1.8 (0.6–5.6)	
Absent	6/44	21/94	1.0	0.23	1.0	0.33
Contact CXR						
Old scar	7/44	2/93	8.6 (1.7–43.4)		6.8 (1.3–35.0)	
Normal	37/44	91/93	1.0	0.01	1.0	0.02
Index CXR						
Cavity	26/37	48/80	1.6 (0.7–3.6)		2.2 (0.6–8.5)	
No cavity	11/37	32/80	1.0	0.27	1.0	0.26
Sputum smear of index case						
1+ or 2+	27/44	69/90	1.0		1.0	
3+	14/44	21/90	1.7 (0.8–3.8)	0.20	1.2 (0.4–3.5)	0.73
Sleeps in same room as index case						
Yes	17/43	21/92	2.2 (1.01–4.8)		2.5 (0.9–7.0)	
No	26/43	71/92	1.0	0.05	1.0	0.09
Length of exposure to index						
≤ 1 month	24/44	41/93	1.0		1.0	
> 1 month	20/44	52/93	0.6 (0.3–1.3)	0.23	0.6 (0.2–2.0)	0.44

* P values from two-tailed P-test.

† From a multivariate logistic regression in STATA with age ≤ 10 , sex, BCG scar, index chest X-ray, sputum smear of index case, sleep in the same room of index case and length of exposure to index case included as covariates in the model. CI is based on robust standard errors to adjust for potential clustering by household, adjusted for 48 clusters by household.

TST = tuberculin skin test; IGRA = interferon-gamma release assay; IU = international units; OR = odds ratio; aOR = adjusted OR; CI = confidence interval; BCG = barillette Calmette-Guerin; CXR = chest radiograph.

Table 5 Principal covariates associated with discordant test results: the TST-/IGRA+ group compared to the reference group (TST-/IGRA-); cut-off: TST \geq 10 mm, IGRA \geq 0.35 IU/ml

Covariate	Reference group		OR (95% CI)	P value*	aOR† (95% CI)	P value*
	TST-/IGRA+ n/N	TST-/IGRA- n/N				
Age, years						
\leq 10	3/17	24/94	0.6 (0.2–2.3)		0.7 (0.1–3.5)	
$>$ 10	14/17	70/94	1.0	0.49	1.0	0.67
Sex						
Male	6/17	39/94	0.8 (0.3–2.3)		1.1 (0.4–3.6)	
Female	11/17	55/94	1.0	0.63	1.0	0.82
BCG scar						
Present	13/17	73/94	0.9 (0.3–3.2)		1.8 (0.4–9.1)	
Absent	4/17	21/94	1.0	0.91	1.0	0.47
Contact CXR						
Old scar	3/17	2/93	9.8 (1.5–63.6)		4.4 (0.4–48.7)	
Normal	14/17	91/93	1.0	0.02	1.0	0.22
Index CXR						
Cavity	6/15	48/80	0.4 (0.1–1.4)		0.2 (0.05–0.9)	
No cavity	9/15	32/80	1.0	0.16	1.0	0.04
Sputum smear of index case						
1+ or 2+	13/15	69/90	1.0		1.0	
3+	3/15	21/90	0.8 (0.2–3.28)	0.78	0.8 (0.2–4.4)	0.84
Sleeps in same room as index case						
Yes	4/17	21/92	1.0 (0.3–3.5)		1.1 (0.2–5.5)	
No	13/17	71/92	1.0	0.95	1.0	0.93
Length of exposure to index						
\leq 1 month	3/17	41/93	1.0		1.0	
$>$ 1 month	14/17	52/93	3.6 (1.0–13.4)	0.06	7.2 (1.7–29.3)	$<$ 0.01

*P values from two-tailed t-test.

†From a multivariate logistic regression in STATA with age \leq 10, sex, BCG scar, index CXR, sputum smear of index case, sleep in the same room of index case and length of exposure to index case included as covariates in the model. CI is based on robust standard errors to adjust for potential clustering by household, adjusted for 44 clusters by household.

TST = tuberculin skin test, IGRA = interferon-gamma release assay, OR = odds ratio, CI = confidence interval; aOR = adjusted OR, BCG = bacille Calmette-Guérin, CXR = chest radiograph.

Table 6 Principal covariates associated with positive concordant tests: the TST+/IGRA+ group compared to the reference group (TST-/IGRA-); cut-off: TST \geq 10 mm, IGRA \geq 0.35 IU/ml

Covariate	Reference group		OR (95% CI)	P value*	aOR† (95% CI)	P value*
	TST+/IGRA+ n/N	TST-/IGRA- n/N				
Age, years						
\leq 10	11/100	24/94	0.4 (0.2–0.8)		0.3 (0.1–0.7)	
$>$ 10	89/100	70/94	1.0	0.01	1.0	0.01
Sex						
Male	41/100	39/94	1.0 (0.5–1.7)		1.2 (0.7–2.4)	
Female	59/100	55/94	1.0	0.95	1.0	0.52
BCG scar						
Present	74/99	73/94	0.9 (0.4–1.7)		1.1 (0.5–2.0)	
Absent	25/99	21/94	1.0	0.64	1.0	0.83
Contact CXR						
Old scar	14/99	2/93	7.5 (1.7–40.0)		7.4 (2.2–24.4)	
Normal	85/99	91/93	1.0	0.01	1.0	$<$ 0.01
Index CXR						
Cavity	64/92	48/80	1.5 (0.8–2.9)		1.3 (0.6–2.8)	
No cavity	28/92	32/80	1.0	0.19	1.0	0.51
Sputum smear of index case						
1+ or 2+	43/99	69/90	1.0		1.0	
3+	56/99	21/90	2.5 (1.3–4.7)	$<$ 0.01	2.8 (1.3–6.1)	0.01
Sleeps in same room as index case						
Yes	29/100	21/92	1.4 (0.7–2.6)		1.2 (0.5–2.9)	
No	71/100	71/92	1.0	0.33	1.0	0.70
Length of exposure to index						
\leq 1 month	42/100	41/93	1.0		1.0	
$>$ 1 month	58/100	52/93	1.1 (0.6–1.9)	0.82	1.1 (0.5–2.3)	0.90

*P values from two-tailed t-test.

†From a multivariate logistic regression in STATA with age \leq 10, sex, BCG scar, index CXR, sputum smear of index case, sleep in the same room of index case and length of exposure to index case included as covariates in the model. CI is based on robust standard errors to adjust for potential clustering by household, adjusted for 53 clusters by household.

TST = tuberculin skin test, IGRA = interferon-gamma release assay, OR = odds ratio, CI = confidence interval; aOR = adjusted OR, BCG = bacille Calmette-Guérin, CXR = chest radiograph.

diameter of TST induration was 13 mm (IQR 12–16) among TST+/IGRA- individuals and 16 mm (IQR 14–19) among the positive concordant group, TST+/IGRA+. Using the same covariates included in all logistic regression models in this study, we built a model to compare the TST+/IGRA- group with the TST+/IGRA+; no other risk factors were found.

TST-/IGRA+

The median age of individuals was 37 years (IQR 20–57) for the TST-/IGRA+ group and 22 years (IQR 9–36) for the TST-/IGRA- group ($P = 0.02$; Table 3). Individuals with TST-/IGRA+ results were less likely to be exposed to an index case with a CXR showing evidence of cavitory disease than contacts with negative concordant results (OR 0.2, 95%CI 0.05–0.9, $P = 0.04$). Individuals with TST-/IGRA+ results were 7.2 times more likely to report their length of exposure to the symptomatic index case as >1 month compared to those with concordant negative results (OR 7.2, 95%CI 1.7–29.3, $P < 0.01$; Table 5).

Concordant groups

The principal covariates associated with the positive concordant group when compared to the negative concordant group are summarized in Table 6.

DISCUSSION

The prevalence of LTBI in household contacts according to the TST results was 55.6%. This is 2.2 times the estimated prevalence of LTBI among the general Brazilian population.¹⁹ The prevalence found in our study is similar to that found by TST in a point-prevalence study of LTBI in household contacts (52.3%) in Salvador, Brazil.²⁰ Although the practice of LTBI contact tracing among household contacts is uncommon in countries with high prevalence of TB,²¹ our results are consistent with reports from such countries.^{14,22}

We found an agreement between tests of 0.76, which is consistent with other studies.^{5,6,22,23} It is widely accepted that TST results can be influenced by BCG vaccination. Since the late 1970s, BCG vaccination coverage in Brazil has been universal and is administered in the first month of life.^{2,24} BCG scar was observed in 76% of contacts in our study. However, there was no difference in median age between the TST+/IGRA- group and the TST-/IGRA- group; household contacts with TST+/IGRA- did not have a significantly higher odds of having a BCG scar compared to those who tested TST-/IGRA- (OR 1.8, 95%CI 0.6–5.6, $P = 0.333$). This finding suggests that BCG vaccination did not significantly influence TST results in our study population.

Studies that compare TST and IGRA in high-risk populations always identify a subgroup with discordant test results (TST+/IGRA- or TST-/IGRA+).

From a clinical management perspective, individuals who have TST+/IGRA- results raise concern. The basis of LTBI treatment in many countries, including Brazil, is a positive TST. In this study, 40 household contacts tested TST+/IGRA-. The question is which test result to believe and use to decide on initiation of treatment. Interestingly, those who tested TST+/IGRA- shared some of the demographic and clinical characteristics observed in those who tested positive by both tests when the two groups were compared with the negative concordant group. After adjusting for all other variables and within-household correlation, the TST+/IGRA- group was significantly more likely to have a CXR showing old lung scar, just like the TST+/IGRA+ group (Table 4). Like the positive concordant group, the TST+/IGRA- group was also more likely to live in smaller households than those who tested negative by both tests. The range of ages in the TST+/IGRA- and the positive concordant group were also similar (15–45 and 13–41 years, respectively), although the median age differed between the two groups (Table 3). No other differences in risk characteristics were found between the TST+/IGRA- and the positive concordant group (data not shown).

On the other hand, the TST-/IGRA+ discordant group was less likely to live with an index case with CXR showing cavitory disease and had higher odds of exposure to the index case >1 month (Table 5). The TST-/IGRA+ group was significantly older (median 37 years) than the TST-/IGRA- group (median 22 years). It should be noted that the mean size of induration of this discordant group was 6 mm compared to 0 mm in the negative concordant group (Table 3). It is possible that older age may have contributed to the weak delayed-type hypersensitivity response, and that a two-step TST might have yielded a positive TST result in this group. However, we also note that the above significant ORs rely on a small sample size ($n = 17$) and hence could represent spurious results.

A similar study was recently conducted in Germany, a country with low incidence of TB.²⁵ Nienhaus et al. compared TST and IGRA test results in 1033 healthy subjects who were either part of a contact investigation or health workers. At a cut-off point of 10 mm diameter for TST, the discordance was 15.4%, most of which were TST+/IGRA-. BCG vaccination or migration explained 85% of the TST+/IGRA- discordance. Similar to our observation, the TST-/IGRA+ group tended to be older than the TST-/IGRA- group. They concluded that IGRA is suitable for differentiating LTBI from those vaccinated with BCG or migrants in low-incidence areas such as Germany.²⁵

In our study, conducted in a city with a high TB incidence, high LTBI prevalence and where BCG is routinely administered, the discordance was greater (24%), and BCG did not account for this discordance.

Thus, it seems that the decision to initiate treatment of LTBI in household contacts in Brazil should continue to rely on a positive TST result until further studies on the disease progression of highly exposed individuals with discordant results are undertaken. A recent study on the disease progression of IGRA-contacts, with either TST+ or TST- results, shows a low risk of progression to active TB disease.²⁶ However, these results were based on a very different study population with a broader definition of contacts. Because treatment of LTBI is an important part of TB control, recommendations for the initiation of LTBI treatment should not be changed without proper analysis of the diagnostic tests in all populations at risk.

Acknowledgements

The authors thank the director of the Hospital Especializado Octavio Mangabeira and the clinical laboratory at the hospital. This study was supported by a grant from the Fogarty International Center, National Institutes of Health (5U2RTW006885).

References

- World Health Organization. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing; WHO report 2008. WHO/HTM/TB/2008.393. Geneva, Switzerland: WHO, 2008.
- Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde Brazil. DATASUS. Brasília, Brazil: Ministério da Saúde, 2008. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?idb2006/d0202.def> Accessed April 2007. [Portuguese]
- Cole F C, Cook C E. Characterization of infectious aerosols in health care facilities: an aid to effective engineering controls and preventive strategies. *Am J Infect Control* 1998; 26: 453–464.
- Canadian Tuberculosis Committee. Housing conditions that serve as risk factors for tuberculosis infection and disease. An Advisory Committee Statement (ACS). *Can Commun Dis Rep* 2007; 33 (ACS-9): 1–13.
- Pai M, Riley L W, Colford J M Jr. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 761–776.
- Menzies D, Pai M, Coombs G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. *Ann Intern Med* 2007; 146: 340–354.
- Eum S Y, Lee Y J, Kwak H K, et al. Evaluation of the diagnostic utility of a whole-blood interferon-gamma assay for determining the risk of exposure to *Mycobacterium tuberculosis* in bacille Calmette-Guérin (BCG)-vaccinated individuals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 61: 181–186.
- Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde Brazil. Manual Técnico para o Controle da Tuberculose. In: Básica Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica, ed. Cadernos de Atenção Básica Série A normas e manuais técnicos. 1st ed. Brasília, Brazil: Ministério da Saúde, 2002: pp 1–16. [Portuguese]
- Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. II Consenso Brasileiro de tuberculose. Diretrizes Brasileiras para tuberculose 2004. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* 2004; 30 (Suppl): S2–S56. [Portuguese]
- Andersen P, Munk M E, Pollock J M, Doherty T M. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000; 356: 1099–1104.
- Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for the investigation of contacts of persons with infectious tuberculosis. Recommendations from the National Tuberculosis Controllers Association and CDC. Guidelines for using the QuantiFERON®-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States. *MMWR* 2005: pp 1–57.
- Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: t-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. *Ann Int Med* 2008; 149: 177.
- Mantegani P, Piana F, Codecasa L, et al. Comparison of an in-house and a commercial RD1-based ELISpot-IFN-gamma assay for the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Med Res* 2006; 4: 266–272.
- Aderifa I M, Lugos M D, Hammond A, et al. Comparison of two interferon gamma release assays in the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease in The Gambia. *BMC Infect Dis* 2007; 7: 122.
- Ministério do Planejamento Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. População. Brasília, Brazil: Ministério do Planejamento Orçamento e Gestão, 2008. <http://www1.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao> Accessed May 2008. [Portuguese]
- International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. Sputum examination for tuberculosis by direct microscopy in low-income countries. Technical guide. Paris, France: The Union, 2000. http://www.iautld.org/pdf/en/guides_publications/microscopy_guide.pdf Accessed April 2008.
- Behr M A, Hopewell P C, Paz E A, Kawamura I M, Schechter G F, Small P M. Predictive value of contact investigation for identifying recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 465–469.
- Cellestis. Package insert for in vitro diagnostic use. QuantiFERON TB Gold (In-Tube Method) for in vitro diagnostic use. Carnegie, VA, Australia: Cellestis, 2007. <http://www.cellestis.com/> Accessed March 2008.
- Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Ravighione M C. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. *JAMA* 1999; 282: 677–686.
- Lemos A C, Matos F D, Pedral-Sampaio D B, Netto E M. Risk of tuberculosis among household contacts in Salvador, Bahia. *Braz J Infect Dis* 2004; 8: 424–430.
- Morrison J, Pai M, Hopewell P C. Tuberculosis and latent tuberculosis infection in close contacts of people with pulmonary tuberculosis in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2008; 8: 359–368.
- Pai M, Gokhale K, Joshi R, et al. *Mycobacterium tuberculosis* infection in health care workers in rural India: comparison of a whole-blood interferon gamma assay with tuberculin skin testing. *JAMA* 2005; 293: 2746–2755.
- Machado A Jr, Szabo K, Barbosa T, et al. Comparison of whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing in household contacts of pulmonary tuberculosis in Salvador, Brazil. *Chest* 2007; 132: S433.
- Benevolo-de-Andrade T C, Monteiro-Maia R, Cosgrove C, Castello-Branco L R, Moreau B C G. Rio de Janeiro: an oral vaccine against tuberculosis—review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100: 459–465.
- Nienhaus A, Schablon A, Diel R. Interferon-gamma release assay for the diagnosis of latent TB infection—analysis of discordant results, when compared to the tuberculin skin test. *PLoS ONE* 2008; 3: e2665.
- Diel R, Lodenkemper R, Meywald-Walter K, Niemann S, Nienhaus A. Predictive value of a whole blood IFN-gamma assay for the development of active tuberculosis disease after recent infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177: 1164–1170.

RÉSUMÉ

OBJECTIF : Analyser les facteurs en association avec les discordances entre le test cutané tuberculinique (TCT) et les techniques de libération de l'interféron-gamma (IGRA) chez les sujets au contact dans le ménage avec des patients atteints de tuberculose (TB) pulmonaire.

SCHEMA : A Salvador au Brésil, nous avons pratiqué le TCT (dérivé protéique purifié) et l'IGRA (Quantiferon®-TB Gold) chez les sujets au contact dans le ménage avec des patients atteints de TB pulmonaire chez qui le diagnostic avait été porté entre 2006 et 2007. Les groupes de tests discordants ont été comparés au groupe TCT-/IGRA-.

RÉSULTATS : Sur 261 contacts dans le ménage testés de manière satisfaisante par le TCT, les résultats ont été positifs chez 145 sujets (55,6%) ; sur les 298 sujets testés de manière satisfaisante par l'IGRA, les résultats ont été positifs chez 127 sujets (43,1%). Le niveau de concordance entre les tests est de 0,76 ($\kappa = 0,53$; IC95% 0,43-

0,63). Il y a eu 61 discordances (24%), soit 44 (72%) TCT+/IGRA- et 17 (28%) TCT-/IGRA+. Par comparaison avec le groupe TCT-/IGRA-, le groupe TCT+/IGRA- et le groupe TCT+/IGRA+ sont significativement plus susceptibles d'avoir un cliché thoracique avec présence de vieilles cicatrices pulmonaires (respectivement OR = 6,8 ; IC95% 1,3-35,0 ; et OR = 7,4 ; IC95% 2,2-24,4). Le groupe TCT-/IGRA+ a été exposé de manière significativement plus prolongée au cas index que le groupe TCT-/IGRA- (OR = 7,2 ; IC95% 1,7-29,3).

CONCLUSION : Les groupes TCT+/IGRA- et TCT+/IGRA+ ont des caractéristiques communes plus semblables entre elles vis-à-vis du groupe TCT-/IGRA-. Dans un contexte endémique de TB, les résultats du TCT apparaissent plus adéquats pour la décision de traiter une infection TB latente.

RESUMEN

OBJETIVO : Analizar los factores asociados con la discordancia entre los resultados de la prueba cutánea de la tuberculina (TST) y las pruebas de liberación de interferón gama (IGRA) en los contactos domiciliarios de pacientes con tuberculosis (TB) pulmonar.

MÉTODO : Se practicó la TST y la IGRA (Quantiferon®-TB Gold) en los contactos domiciliarios de los pacientes con TB pulmonar diagnosticados entre 2006 y 2007 en Salvador, Brasil. Los grupos discordantes se compararon con el grupo que presentó ambos resultados negativos.

RESULTADOS : De los 261 contactos con una TST satisfactoria, 145 (55,6%) tuvieron resultado positivo ; de los 298 contactos con una IGRA satisfactoria, 127 (43,1%) tuvieron resultado positivo. La prueba de concordancia fue de 0,76 ($\kappa = 0,53$; IC95% 0,43-0,63). Sesenta y un (24%) casos fueron discordantes ; un primer subgrupo de 44 personas (72%) con TST positiva y IGRA negativa y un segundo subgrupo de 17 (28%) con TST

negativa y IGRA positiva. Comparados con el grupo que obtuvo resultados negativos en ambas pruebas, el primer subgrupo y el grupo con ambas pruebas positivas tuvieron una probabilidad significativamente mayor de presentar imágenes de secuelas en la radiografía de tórax (OR = 6,8 ; IC95% 1,3-35,0 ; y OR = 7,4 ; IC95% 2,2-24,4, respectivamente). El segundo subgrupo (TST negativa y IGRA positiva) estuvo expuesto al caso inicial por un período significativamente más largo que el grupo con ambos resultados negativos (OR = 7,2 ; IC95% 1,7-29,3).

CONCLUSIÓN : El grupo con resultado positivo a la TST y negativo a la IGRA y el grupo con ambos resultados positivos compartieron características, más semejantes entre sí, que con el grupo que presentó ambos resultados negativos. En un entorno con TB endémica, los resultados de la TST parecen más adecuados para la decisión de tratar la infección tuberculosa latente.

Apêndice 02

FATORES DE RISCO PARA A NÃO CONCLUSÃO DO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE LATENTE EM SALVADOR, BRASIL

Artigo publicado: MACHADO JR, A.; FINKMOORE, B. C.; EMODI, K.; TAKENAMI, I.; BARBOSA, T.; TAVARES, M.; REIS, M. G.; ARRUDA, RILEY, L. W. Risk factors for failure to complete a course of latent tuberculosis infection treatment in Salvador, Brazil. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, 13(6):719–725, 2009.

Risk factors for failure to complete a course of latent tuberculosis infection treatment in Salvador, Brazil

A. Machado Jr.,*† B. Finkmoore,¹ K. Emodi,¹ I. Takenami,* T. Barbosa,⁵ M. Tavares,* M. G. Reis,*[¶] S. Arruda,*[¶] L. W. Riley¹

*Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, Bahia, †Hospital Especializado Octávio Mangabeira, Salvador, Bahia, Brazil; ¹School of Public Health, University of California, Berkeley, California, USA; ²Laboratório Integrado de Microbiologia e Imunorregulação, ³Laboratório de Patologia e Biologia Molecular, and ⁴Laboratório Avançado de Saúde Pública, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, Bahia, Brazil

SUMMARY

BACKGROUND: Although treatment of latent tuberculosis infection (LTBI) is an essential component of tuberculosis (TB) control in countries such as the United States, it is not widely practiced in most TB-endemic countries.

OBJECTIVE: To examine the practice of and adherence to LTBI treatment in a high-risk population in Brazil.

DESIGN: We followed household contacts (HHCs) of patients hospitalized with pulmonary TB in Salvador, Brazil, for 6 months after they initiated LTBI treatment with isoniazid (INH). HHCs were asked to return to the hospital once a month for 6 months for follow-up visits and INH refills.

RESULTS: Of 101 HHCs who initiated LTBI treatment, 54 (53.5%) completed the 6-month regimen. The risk of treatment non-completion was significantly higher in

HHCs who reported side effects to INH (RR 2.69, 95%CI 1.3–5.8, $P = 0.01$), and in those who had to take two buses for a one-way trip to the hospital (RR 1.8, 95%CI 1.01–3.3, $P = 0.04$). Of the 101 HHCs, 29 (28.7%) did not return for any follow-up visits; these HHCs were significantly more likely to have a 2-bus commute to the hospital compared to HHCs who completed treatment (OR 20.69, 95%CI 2.1–208.4, $P = 0.01$).

CONCLUSION: Nearly 50% of HHCs at high risk for developing TB completed a 6-month course of LTBI treatment. Completion of LTBI treatment was most affected by medication intolerance and commuting difficulties for follow-up visits.

KEY WORDS: latent tuberculosis infection; isoniazid; adherence; household contacts

A HIGH PREVALENCE of latent tuberculosis infection (LTBI) occurs among close contacts of persons with pulmonary tuberculosis (TB).^{1–3} Individuals infected with *Mycobacterium tuberculosis* are at an increased risk of developing active disease during the first years after new infection.^{4,5} Treatment of LTBI is therefore a strategic component of TB control programs.⁶

Isoniazid (INH) significantly reduces the risk of progression from LTBI to active disease,^{7,8} and is a mainstay of TB control in industrialized countries such as the United States. In most TB endemic countries, contact investigation is accorded low priority, and formal LTBI treatment programs do not exist.⁹ TB prevention relies mostly on bacille Calmette-Guérin (BCG) vaccination in these countries. The World Health Organization (WHO) currently recommends INH preventive treatment only for children aged ≥ 5 years who are contacts of infectious cases.^{10,11} Despite the lack of specific recommendations for the

broader population, WHO guidelines state that programs that provide screening and INH treatment to all household contacts (HHCs) of infectious cases—both children and adults—are desirable.¹² Reasons often cited for lack of LTBI treatment of the general population in developing countries include the lack of standardized diagnostic criteria for LTBI, the inability to distinguish the effect of BCG vaccination on tuberculin skin test (TST) results, the possibility of mistakenly treating those who may have active disease with INH alone, and the side effects of INH. Information related to the feasibility, adherence, and acceptability of LTBI treatment is thus limited in most TB endemic countries.

The Brazilian National TB Control Program (NTP) recommends a 6-month LTBI treatment course of daily INH for children aged ≥ 15 years who live in the same household as a sputum positive case, who are not BCG vaccinated, and who have a TST reaction ≥ 10 mm, and for BCG vaccinated children aged

were compared to patients who did not complete treatment. Relative risks (RRs) were calculated with a modified Poisson regression with a robust error variance.²⁸ Odds ratios (ORs) were calculated with single and multivariate logistic regression models. Adjustments were made for clustering by household.

RESULTS

Between 30 November 2006 and 15 February 2008, 301 HHCS of 76 patients hospitalized with pulmonary TB agreed to participate in the study and were administered IS1; 261 (86.7%) returned to HEOM to have their IS1 result read. Of these 261, 145 (55.6%) had a positive IS1 result, of whom 101 (69.7%) initiated LTBI treatment. The 101 HHCS represented 39 distinct households in Salvador, with a median of two study participants per household. Of the 44 (30.3%) HHCS who did not initiate LTBI treatment, 10 (23%) did not meet the criteria for treatment and 34 (77%) refused treatment; interview data were not available for these 34 HHCS. Four HHCS reported diabetes. None of the study participants were on antiretroviral treatment, and none had been previously treated for TB or LTBI.

Of the 101 HHCS who initiated LTBI treatment, 29 (28.7%) were immediately lost to follow up (Table 1). At the end of the 6 month follow up, 54 (53.5%) of 101 HHCS had completed treatment and 47 (46.5%) had not (Table 1).

Adverse effects

Nine (13%) of the 72 HHCS who returned for one or more follow up visits reported adverse effects: three (4%) reported major gastrointestinal symptoms (nausea, vomiting and abdominal pain). Blood tests for bilirubin, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, gamma glutamyl transferase and alkaline phosphatase were performed on these patients; the results were all within normal range. The remaining six (8%) reported loss of appetite, acne and/or skin rash; these effects disappeared over the course of the treatment in all six. There were no cases of peripheral neuropathy or hepatotoxicity.

Risk for failure to complete LTBI treatment

Of the nine HHCS who reported any adverse effects, five (56%) did not complete treatment, while of 63 HHCS who did not report side effects, 15 (21%) did not complete treatment (RR 2.69, 95% confidence interval [CI] 1.3–5.8, $P = 0.01$; Table 2).

Of the 61 HHCS who took two buses to commute to HEOM, 32 (52%) did not complete LTBI treatment, while of 35 HHCS who took one bus in a one-way commute, 10 (29%) did not complete treatment (RR 1.84, 95%CI 1.0–3.3, $P = 0.04$; Table 2). After adjusting for the distance between their residence and HEOM, there was no association between the num-

Table 1 Characteristics of household contacts* who initiated LTBI treatment, $N = 101$

Characteristic	n (%)
Age (years)	mean (s.d.)
0–19	14
20–29	35
30–39	30
40–49	24
≥50 years	40 (40)
Gender	
Male	68 (67)
Female	36 (35)
Marital status	
Married	10 (10)
Single	10 (10)
Widowed	10 (10)
Divorced	10 (10)
Never married	10 (10)
Employment status	
Employed	27 (46)
Unemployed	74 (73)
Family size (number of persons)	mean (s.d.)
2–3	45 (44.7)
4–5	39 (38.6)
≥6	26 (26.6)
Distance between HEOM and residence	
≤5 km	24 (24)
6–10 km	29 (29)
≥10 km	39 (39)
Number of buses required to commute to HEOM†	
One	32 (32)
Two	69 (68)
Relationship to study case	
Spouse/partner	42 (42)
Adult, unrelated household member	59 (59)
Time of exposure to study case	mean (s.d.)
2–7 months	32 (32)
Number of contacts previously received	
0	29 (28.7)
1	10 (9.9)
2	3 (3.0)
3	5 (5.0)
4	0
≥5	54 (53.5)

* HHCS were defined as persons who lived in the same household as the study case at the time of diagnosis of TB.

† HHCS who lived in the same household as the study case.

‡ HHCS who lived in the same household as the study case at the time of diagnosis of TB.

§ HHCS who lived in the same household as the study case at the time of diagnosis of TB and who were exposed to the study case for at least 10 days.

¶ HHCS who lived in the same household as the study case.

‡‡ The number of buses a study participant took to HEOM was defined as the number of buses a study participant took to HEOM in a one-way commute. For example, if a study participant took two buses to HEOM, they would be considered to have taken one bus in a one-way commute.

ber of buses a study participant took and failure to complete LTBI treatment (adjusted RR 1.38, 95%CI 0.7–2.6, $P = 0.31$).

Of 38 HHCS who lived at a distance of ≥ 10 km from HEOM, eight (21%) did not complete treatment, while of 28 HHCS who lived within 5 km of HEOM, 15 (54%) did not complete treatment (RR 0.39, 95%CI 0.2–0.8, $P = 0.01$; Table 2). After adjusting for the number of buses a HHCS took in a one-way commute between their home and HEOM, HHCS who lived at a distance of ≥ 10 km had a lower risk of treatment failure compared to those who lived within 5 km of HEOM (adjusted RR 0.40, 95%CI 0.2–0.8, $P = 0.01$).

> 15 years who have a TST reaction ≥ 15 mm.¹² The Brazilian NTP guidelines also state that treatment for all HHCs of pulmonary TB cases with a TST reaction ≥ 10 mm should be considered.¹³ However, these recommendations are not widely followed. In this study, we studied HHCs with documented ETBI exposed to hospitalized TB index cases in Salvador, Brazil, to observe what happens to this high risk cohort in a TB-endemic setting when they are offered ETBI treatment.

METHODS

Setting

We prospectively enrolled study participants between November 2006 and February 2008 from Hospital Especializado Octavio Mangabeira (HEOM), a 217-bed public chest disease hospital in Salvador, Brazil. Salvador is the capital of Bahia state, with a population of 2 714 018 in 2006.¹⁴ In 2005, it had a TB incidence of 88 per 100 000 population— one of the highest TB incidence rates in Brazil.¹⁵ Salvador does not have an active TB contact investigation program.

Study participants

The study was approved by the respective human subjects committees of Oswaldo Cruz Foundation in Salvador, Brazil, and the University of California at Berkeley, USA. Informed consent was obtained from all subjects who agreed to participate in the study.

Index cases

Index cases were defined as hospitalized patients with symptoms consistent with TB and one or more of the following characteristics: 1) chest radiography suggestive of TB; 2) sputum samples that contained acid fast bacilli on microscopy; 3) individuals who responded to anti tuberculosis drugs. Sputum was analyzed with the Ziehl-Neelsen staining method and its burden was classified as negative, 1+, 2+ or 3+, as previously reported.¹⁶ The characteristics of the index cases are described elsewhere.¹⁶

Household contacts

Contacts who spent at least 100 h with the index case during the latter's symptomatic period and who lived in the same residence were considered HHCs and were invited to participate in the study.¹⁶⁻¹⁸

Data collection

HHCs who were enrolled underwent TST and were interviewed by members of the study team (AM, KE, H) when they returned for TST reading. A standardized questionnaire was used to collect the interview data. Study participants were asked about their current use of medications and diabetes status. They were not directly asked about their human immunodeficiency virus (HIV) status, nor were the data sought from clinic

charts. Data were entered into a desktop computer maintained at Gonçalo Moniz Research Center with Epi Info Version 3.4.3 (Centers for Disease Prevention and Control, Atlanta, GA, USA, 2007).

Distance between the residence of the study participant and HEOM was calculated in km with Google maps.⁸ We determined the number of buses necessary for each study participant to commute one way between their residence and the hospital by consulting the Salvador Transportation Agency.

Laboratory test

TST was performed by a trained nursing staff with 0.1 ml of purified protein derivative (PPD; RT23 (2 tuberculin units [TU], Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark). The reaction was read 72 h later by the chest physician on the study team (AM). The cut off point for a positive reaction was an induration diameter of ≥ 10 mm, according to the Brazilian NTP guidelines.¹³

Treatment

Six months of daily INH treatment was offered to eligible HHCs with a positive TST result; this is the standard ETBI treatment regimen in Brazil.¹² INH was supplied to the study participants by the Brazilian Ministry of Health without charge. INH treatment was not offered to patients with a positive TST if they were pregnant or if they were diagnosed with active TB.

Following consent, participants received a 6-month supply of INH, 5 mg/kg of body weight (maximum 300 mg), and were asked to return every 30 days for refills. HHCs who completed ETBI treatment were defined as those who returned to HEOM every 30 days for 6 months and received six 30-day supplies of INH. HHCs who did not complete treatment were defined as those who missed at least one but not all of the follow up visits and missed an INH refill. HHCs who were immediately lost to follow up were defined as those who did not return to HEOM for a follow up visit or any INH refills.

Participants were instructed to terminate therapy immediately upon onset of any adverse reactions (nausea, vomiting, jaundice, abdominal pain, headache, peripheral neuropathy, itching, rash). Blood tests to monitor liver toxicity were conducted for patients with major gastrointestinal symptoms. Payment or incentives were not offered.

Statistics

The database was created in Epi Info Version 3.4.3. Interview data were entered into Epi Info by members of the study team (KE, H) and were analyzed using Stata 10.0 Intercooled (StataCorp, College Station, TX, USA). Patients who completed the 6-month treatment

Table 2 Risk for failure to complete 6 months of isoniazid treatment for latent tuberculosis infection among HHCs of index cases hospitalized with pulmonary tuberculosis*

	Treatment non-completion (n = 47) n (%)	Treatment complete (n = 54) n (%)	RR (95%CI) ^c	P value ^d
Age, years	median 23	median 24		
0-10	7 (15)	7 (13)	0.0	
11-21	15 (32)	18 (33)	0.91 (0.5-1.7)	0.77
22-39	13 (28)	17 (31)	0.87 (0.4-1.7)	0.67
≥40	12 (26)	12 (22)	1 (0.5-1.9)	1.0
Male sex	19 (40)	25 (46)	0.88 (0.57-1.35)	0.56
Relationship to index case				
Spouse, child, parent	22 (47)	20 (37)	1.24 (0.8-1.9)	0.32
Aunt, uncle/cousin/neighbor/ grandparent/sibling	25 (53)	34 (63)	0.0	
Report of adverse effects ^e	5 (28)	4 (7)	2.69 (1.3-5.8)	0.01
Monthly family income, US\$				
210-420	12 (25)	23 (43)	0.64 (0.4-1.1)	0.11
630-840	21 (45)	18 (33)	0.0	
Did not say	14 (30)	13 (24)	—	—
Distance to HEOM, km ^f				
0-5	15 (37)	13 (24)	0.0	—
5.1-10	18 (44)	11 (20)	1.16 (0.7-1.8)	0.52
>10	8 (20)	30 (56)	0.39 (0.2-0.8)	0.01
Number of buses required to commute to HEOM ^g				
One	10 (24)	25 (46)	0.0	
Two	32 (76)	29 (54)	1.84 (1.0-3.3)	0.04

* Generalized linear models were built in Stata.

^b Based on robust standard errors that account for clustering by household.^c Fisher's exact P values.^d Data only available for patients who returned at least once for a follow-up visit; reports of adverse effects are available for 18 HHCs who did not complete treatment.^e Data not available for six individuals who did not complete INH.^f Data not available for five individuals who did not complete INH.

HHC = household contact; RR = relative risk; CI = confidence interval; HEOM = Hospital Especializado Octávio Mangabeira.

Subgroup analysis of HHCs immediately lost to follow-up

Of the 53 HHCs who took two buses to commute to HEOM, 24 (45%) were immediately lost to follow-up, while of the 26 HHCs who took one bus, one (4%) was immediately lost to follow-up (OR = 20.69, 95%CI 2.1-208.4, $P = 0.01$; Table 3).

DISCUSSION

A recent systematic review of INH trials of ≥6 months in non-HIV-infected persons from 1955 to 2003 found that among 11 relevant studies selected for review, only two were conducted among HHCs of index TB cases in TB-endemic countries—Kenya (1963) and the Philippines (1965).¹⁹ All others were conducted in the United States and other industrialized countries, or in cohorts with underlying medical problems.¹⁹ Today, neither Kenya nor the Philippines routinely conduct contact investigations to identify candidates for INH treatment. Our study, in a country that administers BCG to prevent TB, found that INH treatment, when offered, was well accepted (77%) and tolerated. Furthermore, we found that of the 101 HHCs who initiated LTBI treatment, slightly more than

50% completed the full 6-month course. This completion rate falls towards the higher end of completion rates reported in the United States for 6 months of LTBI treatment.^{6,20} Our rate of treatment completion may be attributed to prospective study enrollment.²⁰ However, a prospective study that enrolled pediatric HHCs of pulmonary TB patients in Cape Town, South Africa, found that only 36/180 (20%) completed <5 months of INH treatment.²¹

There are no reported studies on factors associated with failure to complete INH treatment for LTBI in non-HIV-infected persons in countries that administer BCG to prevent TB. Two recent articles that examined time to treatment failure are from studies conducted in the United States.^{22,23} A retrospective cohort study of LTBI patients at the Boston Medical Center TB clinic in 1998 found that over half of the patients who initiated LTBI treatment and did not complete it were lost to follow-up within the first month.²² This study did not investigate risk factors for immediate loss to follow-up.

Of the 47 HHCs who did not complete 6 months of treatment, 42 (89%) did not return for INH refills after the third month of treatment, and nearly two thirds of non-completers were immediately lost to

Table 3 Risk factors for immediate loss to follow-up among HHCs of index cases hospitalized with pulmonary tuberculosis who initiated treatment for latent tuberculosis infection*

	Treatment stopped in first month (n = 29) n (%)	Treatment complete (n = 54) n (%)	OR (95% CI) [†]	P value [‡]
Age, years	median: 23	median: 24		
0-10	6 (21)	7 (13)	1.0	
11-21	8 (28)	18 (33)	0.52 (0.1-2.0)	0.35
22-39	6 (21)	17 (31)	0.23 (0.1-1.7)	0.23
≥40	9 (31)	12 (22)	0.85 (0.2-3.5)	0.88
Male sex	11 (38)	25 (46)	0.71 (0.3-1.8)	0.46
Relationship to index case				
Spouse, child, parent	13 (45)	20 (37)	1.38 (0.4-5.0)	0.49
Aunt, uncle/cousin/ neighbor/ grandparent/sibling	16 (55)	34 (63)	1.0	
Monthly family income, US\$				
210-420	5 (17)	23 (43)	0.21 (0.02-1.9)	0.17
630-840	19 (66)	18 (33)	1.0	
Did not say	5 (17)	13 (24)	—	—
Report of adverse effects [§]	n/a	4 (7)	—	—
Distance to HEOM, km [¶]				
0-5	8 (32)	13 (24)	1.0	
5.1-10	13 (52)	11 (20)	1.92 (0.2-22.2)	0.60
>10	4 (16)	30 (56)	0.22 (0.2-3.0)	0.25
Number of buses required to commute to HEOM [¶]				
One	1 (4)	25 (46)	1.0	
Two	24 (96)	29 (54)	20.69 (2.1-208.4)	0.01

*Logistic regression models were built in Stata

[†]Standard errors are adjusted to account for clustering by household for household level variables (monthly family income, distance to HEOM, time of exposure to index case, number of buses required to reach HEOM)[‡]Fisher's exact P values[§]Data not available for study participants who did not return for any follow-up visits[¶]Data not available for six individuals, four of whom stopped treatment in the first month[¶]Data not available for five individuals, four of whom stopped treatment in the first month

HHC = household contact, OR = odds ratio, CI = confidence interval, HEOM = Hospital Especializado Octavio Mangabeira

follow-up (Table 1). HHCs requiring a 2-bus commute to the hospital accounted for 96% of those immediately lost to follow-up (Table 3). The number of buses a study participant is required to take in a one-way commute between their residence and HEOM is not related to the distance the HHC lives from the hospital. Our findings suggest that the number of bus trips, and not distance, is the variable that best describes HHCs who did not complete treatment.

A significant proportion of the 47 HHCs who completed treatment lived at a distance of >10 km from HEOM (Table 2). There is no plausible explanation as to why living farther from the hospital would promote treatment completion; this is likely to be a spurious finding. When we adjusted for the distance between residence and HEOM, a 2-bus commute was not independently predictive of failure to complete INH treatment (Table 2). We believe that the true association between the number of bus trips and failure to complete INH treatment was blurred by the spurious association between the farthest distance category and treatment completion. Most of these 47 were immediately lost to follow-up. The sub-group analysis that excludes the eight HHCs

who did not complete treatment but who were not immediately lost to follow-up eliminates the association between distance and completion of LTBI treatment (Table 3).

At the time of our study, the bus fare in Salvador was about US\$1, and users must pay the full fare again when transferring to another bus. The median number of study participants per household was two; these households paid US\$8 per month in bus fares to participate in the study if they had a two-bus round-trip commute. This is a considerable cost, given the mean monthly family income in our study population of US\$525 (Table 1). Income itself was not associated with treatment completion because there was little variation in income distribution in our study population (income range US\$210-\$840; Table 1). Our findings suggest that subsidizing bus rides for patients would greatly improve the number of INH refills a patient receives and, ultimately, LTBI treatment completion.

This observation in Brazil suggests that a routine LTBI treatment program could be introduced in a high-risk population if it is coordinated by a team that reliably supplies INH and monitors for adverse

effects. We also found that if the patients returned for the first follow-up visit, LTBI treatment, with close monitoring and reassurance, was well accepted and tolerated. Most importantly, we identified factors that contribute to non-completion of the 6-month treatment course in an endemic setting. Treatment tolerability and the ease of monthly commute between the patient's residence and the hospitals using public transport are good predictors of whether an individual will complete treatment. In summary, an LTBI treatment program focused on HHCs in a country that administers BCG is feasible and should be considered as a major part of an NTP.

Acknowledgements

The authors thank the director of the HOEM and the clinical laboratory at the hospital. Financial support was provided by NIH Fogarty International Center 5U2RTW 006885.

References

- Morrison J, Pai M, Hopewell P C. Tuberculosis and latent tuberculosis infection in close contacts of people with pulmonary tuberculosis in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2008; 8: 359-368.
- Lemos A C, Matos E D, Pedral-Sampaio D B, Netto F M. Risk of tuberculosis among household contacts in Salvador, Bahia. *Braz J Infect Dis* 2004; 8: 424-430.
- Caldeira Z M, Sant'Anna C C, Aide M A. Tuberculosis contact tracing among children and adolescents, Brazil. *Rev Saude Publica* 2004; 38: 339-345.
- Parrish N M, Dick J D, Bishai W R. Mechanisms of latency in *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends Microbiol* 1998; 6: 107-112.
- Radhakrishna S, Frieden T R, Subramani R, Santha T, Narayanan P R. Additional risk of developing TB for household members with a TB case at home at intake: a 15-year study. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007; 11: 282-288.
- American Thoracic Society. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *MMWR* 2000; 49: 1-51.
- Broekmans J F, Migliori G B, Rieder H L, et al. European framework for tuberculosis control and elimination in countries with a low incidence. Recommendations of the World Health Organization (WHO), International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD) and Royal Netherlands Tuberculosis Association (KNCV) Working Group. *Eur Respir J* 2002; 19: 765-775.
- Jasmer R M, Nahid P, Hopewell P C. Clinical practice. Latent tuberculosis infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 1860-1866.
- Saukkonen J J, Cohn D L, Jasmer R M, et al. An official ATS statement: hepatotoxicity of anti-tuberculosis therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174: 935-952.
- World Health Organization. Treatment of tuberculosis: guidelines for national programmes. Geneva, Switzerland: WHO, 2003.
- World Health Organization. Guidelines for national tuberculosis programmes on the management of tuberculosis in children. Geneva, Switzerland: WHO, 2006.
- Castelo-Filho A, Kritsky A L, Barreto A W, et al. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Fisiologia. II Consenso Brasileiro de Tuberculose. Diretrizes Brasileiras para Tuberculose 2004. *J Bras Pneumol* 2004; 30 (Suppl): S2-S56. [Portuguese]
- Ministerio do Planejamento Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2008. <http://www1.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao> Accessed May 2008. [Portuguese]
- Ministério da Saúde Secretaria de Políticas de Saúde Brazil. DATASUS. 2008. <http://tabnet.datasus.gov.br> Accessed December 2008. [Portuguese]
- International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. Sputum examination for tuberculosis by direct microscopy in low-income countries. Technical guide. Paris, France: The Union, 2000. http://www.iuatld.org/pdf/en/guides_publications/microscopy_guide.pdf Accessed April 2008.
- Machado A, Emodi K, Takenami I, et al. Analysis of discordance between tuberculin skin test and interferon-gamma release assay. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13: 446-453.
- Behr M A, Hopewell P C, Paz F A, Kawamura L M, Schecter G F, Small P M. Predictive value of contact investigation for identifying recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 465-469.
- Zou G. A modified poisson regression approach to prospective studies with binary data. *Am J Epidemiol* 2004; 159: 702-706.
- Smieja M J, Marchetti C A, Cook D J, Smaili F M. Isoniazid for preventing tuberculosis in non-HIV infected persons. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; (2): CD001363.
- Page K R, Sifakis F, Montes de Oca R, et al. Improved adherence and less toxicity with rifampin vs isoniazid for treatment of latent tuberculosis: a retrospective study. *Arch Intern Med* 2006; 166: 1863-1870.
- Marais B J, van Zyl S, Schaaf H S, van Aardt M, Gie R P, Beyers N. Adherence to isoniazid preventive chemotherapy: a prospective community based study. *Arch Dis Child* 2006; 91: 762-765.
- Parsyan A E, Saukkonen J, Barry M A, Sharnprapai S, Horsburgh C R Jr. Predictors of failure to complete treatment for latent tuberculosis infection. *J Infect* 2007; 54: 262-266.
- Kwara A, Herold J S, Machan J T, Carter E J. Factors associated with failure to complete isoniazid treatment for latent tuberculosis infection in Rhode Island. *Chest* 2008; 133: 862-868.

RÉSUMÉ

CADRE : Bien que le traitement de l'infection tuberculeuse latente (LTBI) soit une composante essentielle de la lutte antituberculeuse dans des pays comme les États-Unis, on n'y recourt pas fréquemment dans la plupart des pays où l'endémie tuberculeuse est importante.

OBJECTIF : Examiner la pratique et l'adhésion au traitement de la LTBI dans une population à haut risque au Brésil.

SCHEMA : Nous avons suivi à Salvador, Brésil, pendant 6 mois après le début du traitement de la LTBI par l'iso-

niazide (INH), les contacts au sein du ménage (HHC) de patients hospitalisés pour une tuberculose (TB) pulmonaire. On a demandé aux HHC de revenir à l'hôpital une fois par mois pendant 6 mois pour les visites de suivi et pour obtenir leur réapprovisionnement d'INH. **RÉSULTATS :** Le régime de 6 mois a été achevé chez 54 (53,5%) des 101 HHC qui ont commencé le traitement de la LTBI. Le risque de non-achèvement du traitement est significativement plus élevé chez les HHC qui ont signalé des effets indésirables de l'INH (RR 2,69;

IC95% 1,3–5,8 ; $P = 0,01$), ainsi que chez les HHC qui devaient prendre deux bus pour un voyage aller vers l'hôpital (RR 1,8 ; IC95% 1,01–3,3 ; $P = 0,04$). Sur les 101 HHC qui ont commencé le traitement de la LTBI, 29 (28,7%) ne sont revenus pour aucune visite de suivi ; ces HHC avaient des chances significativement plus élevées d'avoir à changer deux fois de bus pour aller à l'hôpital par comparaison avec ceux qui ont

achevé leur traitement (OR 20,69 ; IC95% 2,1–208,4 ; $P = 0,01$).

CONCLUSION : Près de la moitié des HHC à haut risque de développement d'une TB ont achevé un traitement de 6 mois pour la LTBI. L'achèvement du traitement de la LTBI est le plus affecté par l'intolérance à l'égard des médicaments et les difficultés de correspondance des transports publics pour les visites de suivi.

RESUMEN

MARCA DE REFERENCIA : Si bien el tratamiento de la infección tuberculosa latente (LTBI) en países como los Estados Unidos constituye un componente esencial de la lucha contra la enfermedad, esta práctica no está muy difundida en la mayoría de los países endémicos.

OBJETIVO : Se evaluar la aplicación y el cumplimiento terapéutico del tratamiento de la LTBI en una población de alto riesgo del Brasil.

MÉTODO : Se practicó un seguimiento a los contactos domiciliarios (HHC) de pacientes hospitalizados por tuberculosis (TB) pulmonar durante 6 meses, desde que comenzaron el tratamiento preventivo con isoniazida (INH), en Salvador, Brasil. Se solicitó a los HHC que acudieran al hospital una vez por mes durante el seguimiento para control y suministro de las dosis del medicamento.

RESULTADOS : De los 101 HHC que iniciaron el tratamiento, 54 (53,5%) completaron la pauta de 6 meses. El riesgo de tratamiento incompleto fue significativamente

más alto en los HHC que refirieron reacciones adversas a la INH (RR 2,69 ; IC95% 1,3–5,8 ; $P = 0,01$) y en quienes debían tomar dos buses en cada desplazamiento hacia el hospital (RR 1,8 ; IC95% 1,01–3,3 ; $P = 0,04$). De los 101 HHC que comenzaron el tratamiento preventivo, 29 (28,7%) no acudieron a ninguna cita de control ; en estos contactos, la probabilidad de tener un trayecto con dos buses para llegar al hospital fue significativamente más alta que en los contactos que completaron el tratamiento (OR 20,69 ; IC95% 2,1–208,4 ; $P = 0,01$).

CONCLUSIÓN : Cerca de la mitad de los HHC con alto riesgo de padecer TB activa completaron el tratamiento preventivo de 6 meses. Los principales factores que influyeron sobre la compleción del tratamiento de la LTBI fueron la intolerabilidad al medicamento y las dificultades con el transporte público para asistir a las consultas de control.

ANEXOS

Informações sobre o teste diagnóstico QuantiFERON-TB® Gold In Tube

Interpretações dos resultados do QFT-G nas amostras testadas (recomendações do fabricante: Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia).

Nil [IU/mL]	TB Antigen minus Nil [IU/mL]	Mitogen minus Nil [IU/mL] ¹	QuantiFERON®-TB [IU/mL]	Report/Interpretation
≤ 8.0	< 0.35	≥ 0.5	Negative	<i>M. tuberculosis</i> infection NOT likely
	≥ 0.35 and < 25% of Nil value	≥ 0.5		
	≥ 0.35 and ≥ 25% of Nil value	Any	Positive ²	<i>M. tuberculosis</i> infection likely
	< 0.35	< 0.5	Indeterminate ³	Results are indeterminate for TB Antigen responsiveness
≥ 0.35 and < 25% of Nil value	< 0.5			
> 8.0 ⁴	Any	Any		

- ¹ Responses to the Mitogen positive control (and occasionally TB Antigen) can be commonly outside the range of the microplate reader. This has no impact on test results.
- ² Where *M. tuberculosis* infection is not suspected, initially positive results can be confirmed by retesting the original plasma samples in duplicate in the QuantiFERON®-TB Gold ELISA. If repeat testing of one or both replicates is positive, the individual should be considered test positive.
- ³ Refer to Trouble Shooting section for possible causes.
- ⁴ In clinical studies, less than 0.25% of subjects had IFN- γ levels of > 8.0 IU/mL for the Nil Control.

Tuberculose Latente em Salvador Questionário do Paciente Índice

Iniciais do entrevistador: _____

Registro do paciente índice _____

Data de entrevista (dd/mm/aaaa): ____ / ____ / ____

Identificação

1. Consentimento: S <input type="checkbox"/> 1 ___ N <input type="checkbox"/> 2 ___	OBITO: S <input type="checkbox"/> 1 ___ N <input type="checkbox"/> 2 ___
2. Data do diagnóstico de tuberculose (dd/mm/aaaa) ____ / ____ / ____	
3. Paciente Internada <input type="checkbox"/> 1	Ambulatorio <input type="checkbox"/> 2

Demografia

4. Nome: _____ (Sobrenome): _____	
5. Data de nascimento (dd/mm/aaaa): ____ / ____ / ____	
6. Idade em anos: _____	
7. Sexo: M <input type="checkbox"/> 1 ___ F <input type="checkbox"/> 2 ___	
8. Nascido em Salvador? S <input type="checkbox"/> 1 ___ N <input type="checkbox"/> 2 ___ Se não, cidade de nascimento: _____	
9. Estado de nascimento: _____	
Endereço: _____	
Bairro: _____ Telefone: _____	
Ponto de Referência: _____	

Sócio-econômico (SES)

10. Número de pessoas na sua casa: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
11. Número de pessoas no seu quarto: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
12. Dimensões aproximadas do seu quarto: _____	
13. Ocupação: _____	
14. Renda total familiar:	
< do que 1 salário mínimo	<input type="checkbox"/> 1
1 a 2 salários mínimos	<input type="checkbox"/> 2
> do que 2 salários mínimos	<input type="checkbox"/> 3
Sem Renda	<input type="checkbox"/> 4
15. Número das pessoas trabalhando na sua família: _____	
16. Frequênta a escola? S <input type="checkbox"/> 1 ___ N <input type="checkbox"/> 2 ___ Recusou <input type="checkbox"/> 8 ___ NSA <input type="checkbox"/> 9	
17. Números dos anos completados: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

39. Causas de abandono do tratamento (TB)

Alcoolismo [1] Falta de dinheiro p/ transporte [2] Distancia entre domicilio e U.S. [3]
 Deficiencia no atendimento da U.S. [4] Falta de medicacao na U.S. [5] Intolerancia a medicacao
 [6] Falta de apoio familiar [7] Nao se aplica [8]
 [9] Outros

40. Baciloscopia do escarro

Positiva [1] Negativa [2] Não realizada [8] Desconhecida [9]

41. Baciloscopia

+ [1]
 ++ [2]
 +++ [3]
 N/A [9]
 Negativa [4]

42. Cultura do escarro

Positiva [1] Negativa [2] Não realizada [8] Em andamento [9]

40. RX tórax

Normal [1]
 Anormal - cavitario [2]
 Anormal - nao cavitario [3]
 Não realizado [8]
 Desconhecido [9]

Observação: _____

41. Quando a tosse começou? Menos do que 1 mês, numero das semanas _____

1-3 meses [1]
 3-6 meses [2]
 >6 meses [3]
 Não sabe/NSA [9]

42. Quanto tempo você esperou ate ser atendido pelo seu medico depois que iniciou os sintomas?

Menos do que 1 mês [1]
 1-3 meses [2]
 3-6 meses [3]
 >6 meses [4]
 Não sabe [9]

43. Emagraceu muito nos últimos 6 meses?

S [1] N [2] Recusou [8] NSA [9]

44. Se sim, quanto peso você perdeu?

1-5 kg [1]
 5-10 kg [2]
 > 10 kg [3]

45. HIV (olhar no prontuário): Positivo 1 Negativo 2 Não tem resultado 3
46. Teve contato com alguém, fora de casa, com tuberculose?
S 1 ___ N 2 ___ Recusou 8 ___ NSA 9
47. Teve contato com alguém dentro da sua casa que teve tuberculose?
S 1 ___ N 2 ___ Recusou 8 ___ NSA 9
48. Já fez PPD antes do diagnóstico de Tuberculose?
S 1 ___ N 2 ___ Recusou 8 ___ NSA 9
49. No passado já fez PPD? Foi positivo? S 1 ___ N 2 ___ Recusou 8 ___ NSA 9
50. Você tem algumas perguntas para mim?

51. Já foi educado sobre tuberculose? S 1 ___ N 2 ___ Recusou 8 ___ NSA 9

Infecção Tuberculose Latente em Salvador Questionário

Nome do paciente índice: _____ Registro _____

Identificação:

1. Quanto tempo vive na mesma casa com o paciente? (nome do paciente)?
Se > 1 ano (elegível para o estudo – continue a entrevista)
Se < 1 ano (não elegível, interrompa a entrevista)
2. Data da entrevista: ____/____/____
3. Consentimento: 1 Sim 2 Não
4. Já teve tuberculose? S 1 N 2 Recusou 8 NSA 9
5. Por quanto tempo você manteve contato com o paciente durante o tempo em que ele estava tossindo/doente? (em meses) _____

Demografia

6. Nome: _____ Sobrenome: _____
Endereço: _____

- Bairro: _____ Telefone: _____
7. Raça informada: Branca 1 Negra 2 Parda 3 Outro 4 Recusou 5
8. Data de nascimento (dd/mm/aaaa): ____/____/____
9. Idade em anos: _____
10. Sexo: 1 Masculino 2 Feminino
11. Nascido em Salvador? 1 Sim 2 Não. Se não, cidade de nascimento: _____
12. Estado: _____
13. Parentesco com o caso índice: 1 Filho(a) 1 Irmão(a) 3 Avô(ó) 4 Primo(a)
5 Tio(a) 6 Vizinho(a) 7 Outro

SES (Situação Sócio-Econômica)

14. Número de pessoas no domicílio: _____
15. Número de pessoas no seu quarto: _____
16. Qual a renda familiar: 1 < R\$450,00 2 ≥ R\$450,00
17. Frequente a escola? 1 Sim 2 Não 8 Recusou 9 NSA
18. Anos de escolaridade: _____

Condições habitacionais

19. Condições da habitação: 1 Casa/apartamento 2 Barraco 3 Cortiço 4 Via pública
20. Possui: 1 Própria 2 Alugada 3 Invasão 4 Cedida
21. Estrutura da habitação: 1 Madeira/zinco 2 Blocos/tijolo 3 Adobe/taipa
22. Energia da habitação: 1 Elétrica 2 Vela/candeeiro
23. Água habitação: 1 Encanada 2 Fonte cisterna
24. Instalações sanitárias: 1 Sim 2 Não
25. Lixo: 1 Coletado 2 Enterrado 3 A céu aberto

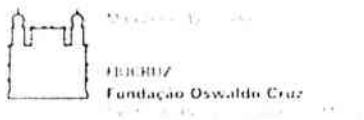
26. Dimensões habitação (m²) – casa toda: _____
 27. Número de cômodos da habitação: _____

Exposição:

28. Dorme no mesmo quarto com o paciente? S 1 N 2 Recusou 8 NSA 9
 29. Teve contato com alguém fora de casa com TB? S 1 N 2 Recusou 8
 30. Se sim, fez PPD? S 1 N 2 Recusou 8
 31. Se fez o PPD, foi positivo? S 1 N 2 Recusou 8

Dados clínicos:

30. Já foi vacinado com BCG? S 1 N 2 Recusou 8 NSA 9
 31. Presença da cicatriz de BCG S 1 N 2 Recusou 8 NSA 9
 32. Já fez PPD no passado? S 1 N 2 Recusou 8 NSA 9
 33. Se fez, foi positivo? S 1 N 2 Recusou 8 NSA 9
 34. Emagreceu não-intencionalmente nos últimos 6 meses?
 S 1 N 2 Recusou 8 NSA 9
 35. Índice de massa corpórea (IMC): _____
 36. Tem tosse há mais de duas semanas? S 1 N 2 Recusou 8 NSA 9
 37. Teve calafrios noturnos? S 1 N 2 Recusou 8 NSA 9
 38. Já lhe foi dito que tem diabetes? S 1 N 2 Recusou 8 NSA 9
 39. Está tomando medicação atualmente? S 1 N 2 Recusou 8 NSA 9



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua, e a outra é do pesquisador responsável. A sua não participação na pesquisa não afetará, de forma alguma, o seu tratamento.

“Infecção Tuberculosa Latente (LTBI) em Salvador”

Pesquisador responsável: Dr. Sérgio Arruda

Telefone para contato: 3176-2310 ou 3176 2232

Este projeto tem como objetivo avaliar os comunicantes domiciliares de tuberculose pulmonar, avaliando o número de contaminados pela doença e comparando o PPD com uma molécula de defesa nos nosso sangue (interferon- γ). Para isso, serão coletados 5 mL do seu sangue e parte da amostra será utilizada para fazer o teste. Você não será beneficiado diretamente; os resultados da pesquisa contribuirão para o esclarecimento dos mecanismos da doença.

Eu, _____, R.G: _____, declaro, por meio deste termo, que concordei em colaborar com a referida pesquisa, a ser desenvolvida pelo Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz/ FIOCRUZ.

Afirmo que aceitei participar por minha própria vontade, sem receber qualquer incentivo financeiro e com a finalidade exclusiva de colaborar para o sucesso da pesquisa.

Fui também esclarecido (a) de que os usos das informações por mim oferecidas estão submetidos às normas éticas destinadas à pesquisa envolvendo seres humanos, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde.

Minha colaboração se fará de forma anônima, por meio de doação sanguínea. Os dados coletados serão mantidos em absoluto sigilo.

Fui ainda informado (a) de que posso me retirar desse estudo a qualquer momento, sem prejuízo para meu acompanhamento ou sofrer quaisquer sanções ou constrangimentos.

Salvador, _____ de _____ de _____

Assinatura do(a) participante: _____

Assinatura do médico (a) entrevistador(a): _____

Assinatura do (a) pesquisador(a): _____



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz

Comitê de Ética em Pesquisas



Comitê de Ética em Pesquisa – CPqGM/FIOCRUZ

PARECER Nº 181/2008

Protocolo: 193

Projeto de Pesquisa: "Infecção tuberculosa latente (LTBI) em Salvador".Pesquisador Responsável: Dr. Sérgio Marcos ArrudaInstituição ou Departamento: NB3/CPqGM-FIOCRUZ**Considerações:**

Após análise ética do projeto e realização dos esclarecimentos solicitados ao responsável, o CEP considera que o projeto atende aos princípios éticos de autonomia, beneficência, não maleficência, equidade e justiça.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisas do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (CEP-CPqGM/FIOCRUZ), conforme atribuições conferidas pela CONEP/CNS/MS (Carta Doc.32-04/97), com base na Resolução 196/96 e suas complementares, julga **aprovado** o projeto supracitado.

O CEP/CPqGM-FIOCRUZ especifica, abaixo, o período de vigência, bem como, determina as datas para o envio dos relatórios semestral e final, referentes ao desenvolvimento do protocolo de pesquisa aprovado.

Vigência: 18/12/2008 a 18/12/2012.Envio dos Relatórios Semestrais em: 18/06/2009 – 18/12/2009 – 18/06/2010 – 18/12/2010 – 18/06/2011 – 18/12/2011 – 18/06/2012.Relatório Final: 18/01/2013.

The present study, entitled "Latent tuberculosis infection in Salvador, Bahia, Brazil" (protocol number 193 has been approved by the Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz - FIOCRUZ (IORG0002090 / IRB000026120) in November 27th 2008 meeting. The protocol and procedures presented in the project are in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human subjects (institutional) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000. In the present version, this project is licensed and valid until December 18th 2012.

Salvador, 18 de dezembro de 2008.

Drª Maria Fernanda Rios Grassi

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

CPqGM/FIOCRUZ

IORG-0002090 / IRB-00002612