

Potencial do teste IGRA (Interferon Gama Release Assay) para o diagnóstico de tuberculose ocular.

Revisão e análise comparativa com o teste tuberculínico cutâneo (PPD)

The potential of the IGRA (Interferon Gamma Release Assay) test for the diagnosis of ocular tuberculosis. Review and comparative analysis with the tuberculosis skin test

Rubens Camargo Siqueira^{1,2} <https://orcid.org/0000-0003-4563-1570>

Fernando Oréface³ <https://orcid.org/0000-0002-7008-601X>

RESUMO

A detecção precisa da infecção latente por tuberculose está se tornando cada vez mais importante devido ao aumento do uso de medicamentos imunossupressores e da epidemia do vírus da imunodeficiência humana, o que aumentou o risco de reativação à tuberculose ativa (TB). O Teste IGRA QuantiFERON® TB Gold apresenta vantagens frente ao teste de PPD como por exemplo, requer somente uma coleta de amostra sanguínea ; não há necessidade que o paciente retorne ao laboratório para leitura e interpretação dos resultados; Os resultados são objetivos, não requerem interpretação do leitor ou interferência de critérios subjetivos; trata-se de um teste in vitro, portanto não há “efeito booster” (potenciação da reação tuberculínica); o teste não é afetado por vacinação prévia por BCG ou infecção por outras espécies de micobactérias. Limitações são descritas, apesar de raras, como reações cruzadas deste método com infecções por algumas espécies de micobactérias não-tuberculosis (incluindo *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium szulgai* e *Mycobacterium marinum*). Ainda há poucos dados sobre o teste IGRA em certas populações, como por exemplo, em crianças, pacientes imunocomprometidos e mulheres grávidas. Nestes grupos, a interpretação do teste pode ser difícil e mais estudos se fazem necessários.

Descritores: IGRA, Quantiferon; PPD; Mantoux; Teste intradérmico; Tuberculose; Uveítes.

ABSTRACT

*Precise detection of latent tuberculosis infection is becoming increasingly important due to increased use of immunosuppressive drugs and the human immunodeficiency virus epidemic, which increased the risk of reactivation to active tuberculosis (TB). The QuantiFERON® TB Gold IGRA Test has advantages over the skin test for TB, otherwise known as a Mantoux tuberculin test, for example, requires only a blood sample collection; there is no need for the patient to return to the laboratory for reading and interpretation of the results; The results are objective, do not require interpretation of the reader or interference of subjective criteria; it is an in vitro test, so there is no “booster effect” (potentiation of the tuberculin reaction); the test is not affected by prior BCG vaccination or infection with other species of mycobacteria. Limitations are described, although rare, as cross-reactions of this method with infections by some species of non-tuberculosis mycobacteria (including *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium szulgai* and *Mycobacterium marinum*). There is still little data on the IGRA test in certain populations, such as in children, immunocompromised patients and pregnant women. In these groups, the interpretation of the test can be difficult and more studies are needed.*

Keywords: IGRA; QuantiFERON; PPD; Mantoux; Intradermal test; Tuberculosis; Uveitis

¹Programa de Pós-graduação, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil;

²Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, Rio Preto, SP, Brasil.

³Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Recebido para publicação em 28/01/2019 - Aceito para publicação em 15/03/2019.

INTRODUÇÃO

Segundo as estimativas da Organização Mundial de Saúde, um terço da população mundial encontra-se atualmente infectada por microrganismos do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, enquanto a maioria das infecções se mantém latente no sistema imune de seus hospedeiros, podendo vir a progredir para a forma ativa e contagiosa da doença. A identificação dos indivíduos portadores de tuberculose latente tem fundamental importância nas estratégias de eliminação da tuberculose, uma vez que a prevenção ao desenvolvimento da doença pode ser feita impedindo a sua transmissão.^(1,2)

Além disso, o uso de inibidores de TNF α no tratamento de doenças inflamatórias crônicas como artrite reumatóide, espondilite anquilosante ou doença de Crohn tem aumentado nas últimas décadas. Pacientes em uso de anticorpos anti TNF α apresentam risco aumentado de desenvolverem infecções, em particular a disseminação de tuberculose extrapulmonar causada pela reativação de infecção latente por *Mycobacterium tuberculosis*. Por este motivo, o rastreamento da tuberculose latente previamente ao início do uso de inibidor de TNF α torna-se essencial, embora conhecidamente problemático, especialmente na presença de terapia imunossupressora, uma vez que nem as técnicas de imagem e nem os teste tuberculínicos cutâneos demonstram suficiente acurácia.

O diagnóstico convencional da tuberculose latente era tradicionalmente feito pelo teste tuberculínico cutâneo – também conhecido como “PPD” ou “Mantoux”. O teste de PPD é baseado na resposta imune intradérmica celular aos antígenos celulares das micobactérias, tornando-o inespecífico para microrganismos patogênicos do complexo *M. tuberculosis* e levando a resultados falso positivos para casos de exposição a micobactérias ambientais e à vacinação pelo Bacilo Calmette-Guérin (BCG).⁽¹⁻³⁾

O teste intradérmico é um dos métodos diagnósticos mais antigos em uso até nossos dias, tendo sido introduzido como rotina desde 1910. Embora tenha sido utilizado rotineiramente por mais de um século, há algumas limitações importantes associadas a este método, tais como: a necessidade de pessoal treinado para administrá-lo, a subjetividade da interpretação e leitura dos resultados e o efeito booster, quando uma administração inicial do PPD pode promover reações subseqüentes do teste. Uma das maiores limitações do teste tuberculínico é a baixa especificidade, especialmente em indivíduos que foram vacinados pelo BCG, ou naqueles infectados por certas espécies de micobactérias não-tuberculosis. O teste pode demonstrar ainda baixa sensibilidade, especialmente em indivíduos imunocomprometidos. Outra limitação importante de ser citada é a necessidade do paciente retornar ao laboratório 48 a 72 horas após a aplicação para leitura dos resultados, o que nem sempre é atingido e aumenta o risco de pacientes com tuberculose latente não serem identificados na população.⁽¹⁻⁴⁾

A descoberta das proteínas imunogênicas das micobactérias ESAT-6, CFP-10 e TB 7.7 – todas expressadas especificamente por cepas patogênicas do complexo *M. tuberculosis*, abriu caminho para o desenvolvimento de testes diagnósticos mais específicos para a tuberculose latente (TBL), ou seja, pessoas com teste positivo para tuberculose (mais comumente com teste tuberculínico positivo), mas sem evidência de infecção ativa. Os testes IGRA (Interferon

Gamma Release Assay) – ensaios de detecção de interferon gama em amostras de sangue – foram desenvolvidos e têm demonstrado ser excelentes ferramentas para o auxílio da tuberculose latente. O princípio do teste é a medida dos níveis in vitro do interferon gama produzido por células T que tenham sido estimuladas por antígenos de TB purificados ou sintetizados.^(3,4)

Nos estados Unidos existe o Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) e que publicam diretrizes atualizadas para o uso de ensaios de liberação de gama interferon para detectar infecção por *Mycobacterium tuberculosis*. Nestas diretrizes eles alertam que embora a sensibilidade e especificidade sejam características inerentes aos testes, sem “padrão ouro”, as estimativas do desempenho do teste podem ocorrer como resultado das diferenças na população do estudo e da taxa de erro de classificação do diagnóstico (por exemplo, como resultado de diferenças na prevalência de *M. tuberculosis* e infecção por micobactérias não tuberculosas, desnutrição e imunossupressão). Além disso, como o PPD e o IGRA são testes indiretos que medem as respostas imunológicas e não são testes diretos que detectam o organismo causador ou os componentes do organismo, avaliações de sensibilidade entre pessoas com tuberculose ativa com cultura podem não fornecer estimativas confiáveis de sensibilidade para o estágio latente. Diferenças imunológicas que permitem a progressão da infecção para a doença podem afetar os resultados do teste imunológico (Quadro 1). Além disso, o tratamento pode alterar as respostas imunológicas e pode alterar os resultados do teste. Estimativas de especificidade entre populações de baixo risco podem subestimar a especificidade porque algumas pessoas podem ter infecção resultante de exposição não reconhecida.⁽¹⁻⁷⁾

Técnica utilizada para o teste de IGRA

O teste de interferon-gama (Interferon Gama Release Assay – IGRA) possui duas técnicas comercializadas internacionalmente: o QuantiFERON-TB Gold In-Tube (QFT) e T-SPOT. Ambos são aprovados pelo FDA (US Food and Drug Administration), Health Canada e CE (Comitê Europeu), porém apenas o QFT possui registro no Brasil.

O sangue é coletado diretamente em três tubos separados: o tubo de controle negativo contendo apenas heparina, o tubo de controle positivo contendo fitohemaglutinina como mitógeno e um terceiro tubo contendo peptídeos específicos para *M. tuberculosis* ESAT-6, CFP-10 e TB7.7. Os tubos são incubados a 37°C durante 18 horas e centrifugados para se obterem amostras de plasma, as quais são armazenadas a -20°C até o teste ELISA ser realizado.

O QFT é portanto um teste de respostas imunitárias mediadas por células (CMI) a peptídeos antigênicos que simulam proteínas micobacterianas. Estas proteínas, ESAT-6, CFP-10, e TB7.7, estão ausentes em todas as estirpes de BCG e na maioria das micobactérias não tuberculosas, com a exceção de *M. kansasii*, *M. szulgai*, e *M. marinum*. Normalmente, os indivíduos infectados com organismos do complexo *M. tuberculosis* possuem linfócitos no sangue que reconhecem estes e outros antigênicos micobacterianos. Este processo de reconhecimento envolve a produção e secreção da citosina IFN- γ . A detecção por ensaio imunoenzimático (ELISA) do IFN- γ é utilizada para identificar respostas imunes celulares in vitro associadas à infecção por *M. tuberculosis*: um indivíduo é considerado portador de infecção por *M. tuberculosis* quando a concentração de IFN-, mensurada em UI/mL, é superior ao cutoff do teste.⁽⁷⁾

IGRA e Vacinação por BCG

Como a resposta QTF-G é baseada na liberação de IFN- γ pelos linfócitos T previamente sensibilizados com *M. tuberculosis* após exposição a duas proteínas presentes na parede celular bacteriana: ESAT-6 e CFP-10, uma vez que esses antígenos estão ausentes no BCG e na maioria das micobactérias presentes no ambiente, a exposição prévia a essas bactérias e a imunização com BCG não induzem a um resultado positivo do teste.^(8,9)

Trabalhos de meta-análises concluíram que a especificidade diagnóstica dos IGRAs para TBL é superior a 95%, enquanto a especificidade não é afetada pela vacinação por BCG. Já o PPD possui especificidade de 97% em populações não vacinadas pela BCG, enquanto em populações onde a BCG é administrada a especificidade é muito mais baixa (em torno de 60%) e variável, dependendo da idade da vacinação e do número de doses administradas de BCG e a sensibilidade do IGRA é reduzida em indivíduos com infecção por HIV e crianças.^(8,9)

Quadro 1
Benefícios do IGRA comparado ao PPD

	IGRA	IGRA	PPD	PPD
Único dia para o exame?	Sim	Paciente necessita de comparecer somente uma vez para o exame (Não é necessário que o paciente retorne ao laboratório para leitura e interpretação do resultado)	não	Paciente necessita de comparecer duas vezes para o exame (necessário que o paciente retorne ao laboratório para leitura e interpretação do resultado)
Alta sensibilidade?	Sim	Sensibilidade de 95% - identifica com precisão pacientes infectados com TB	não	70% de sensibilidade – mais diagnósticos não identificados
Alta especificidade?	Sim	Especificidade de 98% - menos seguimento e tratamento desnecessários	não	Variável; 59% nas populações vacinadas com BCG – os falsos positivos resultam em um acompanhamento desnecessário e dispendioso
Resultados objetivos?	Sim	Ensaio laboratorial objetivo e controlado (não requerem interpretação do leitor ou interferência de critérios subjetivos)	não	Mensuração subjetiva da endureção da pele (requerem interpretação do leitor ou podem sofrer interferência de critérios subjetivos)
Eficaz em pacientes vacinados com BCG?	Sim	Não afetado pela vacinação BCG	não	Resultados afetados pela vacinação com BCG
Risco do Efeito Booster?	não	Não há este risco nesta metodologia	sim	Efeito Booster: Quando já se passaram muitos anos desde que uma pessoa foi infectada com tuberculose, seu teste cutâneo inicial pode ser negativo, devido à diminuição da imunidade. Testes subseqüentes podem ser positivos, no entanto, porque a colocação inicial da tuberculina estimula a resposta imune ao teste. Este fenômeno é referido como o “efeito de booster” ou reforço. O efeito Booster pode ser mal interpretado como uma nova conversão de teste cutâneo (isto é, uma infecção recente por TB).

Como o QFT não é afetado pela BCG, é um teste extremamente útil para avaliação de TBL em indivíduos vacinados pela BCG, particularmente nos países que a BCG é administrada na infância ou múltiplas vezes.^(8,9)

Fatores que influenciam o resultado do IGRA

Apesar do IGRA aparentemente não ser afetado pela maioria das infecções por micobactérias não tuberculosa (MNT) que pode causar falso positivo no PPD, o *M. marinum* or *M. kansasii* expressam o ESAT-6 ou o CFP-10, podendo, portanto, produzir reação cruzada.⁽¹⁰⁾

Como quaisquer outros testes diagnósticos, o IGRA é suscetível à variabilidade por inúmeros fatores em múltiplos níveis, incluindo manufatura do ensaio, processamento pré-analítico, fatores analíticos e imunomodulação.

Por outro lado, vários fatores de risco foram associados a resultados negativos do IGRA, incluindo imunodeficiência, idade jovem ou avançada, resultado negativo do teste tuberculínico (TST), tuberculose extrapulmonar, tuberculose disseminada, tuberculose concomitante e tabagismo. No entanto, esses estudos foram limitados por um desenho observacional implementado em centros únicos e a maioria deles não incluiu um grande número de pacientes com tuberculose confirmada por cultura.⁽¹⁰⁻¹¹⁾

Um estudo internacional, multicêntrico, retrospectivo e transversal foi realizado pelo Grupo de Ensaio Europeus da Rede de Tuberculose (TBNET) (www.tb-net.org) para identificar os fatores de risco associados aos resultados falso-negativos do IGRA em pacientes com tuberculose ativa.

Dados clínicos e resultados laboratoriais de doentes inscritos em 25 centros participantes com um diagnóstico confirmado de tuberculose ativa (isto é, cultura positiva de *M. tuberculosis* e / ou ensaio de amplificação de ácido nucleico específico de *M. tuberculosis* positivo) e que tiveram uma investigação de IGRA de rotina pelo T-Teste SPOT.TB ou o QFT-GIT foram analisados. Os dados foram coletados de 771 pacientes (221 pacientes com tuberculose tiveram IGRA negativo).

Existem evidências de que resultados falso-negativos do IGRA podem ser observados com mais frequência em crianças pequenas, no entanto, como não havia crianças com idade <5 anos matriculados neste estudo, não conseguiram abordar essa possível relação.

Em contraste com investigações anteriores, a imunodeficiência, o tratamento concomitante da tuberculose, a tuberculose disseminada, a tuberculose extrapulmonar e o tabagismo não puderam ser identificados como fatores de risco para resultados falso-negativos do teste IGRA.

Além da associação com a idade avançada, ainda não está claro por que alguns indivíduos com tuberculose ativa têm respostas imunes adaptativas específicas não específicas do *M. tuberculosis* no momento do diagnóstico da tuberculose. Resultados de estudos anteriores sugeriram diferentes etiologias para resultados de testes IGRA falso-negativos que não foram avaliados neste estudo.⁽¹⁰⁻¹¹⁾

Moreno et al. analisaram 520 pacientes com este objetivo. Os fatores associados aos resultados indeterminados de Quantiferon Gold-Test in-Tube (QFT-G-IT) em uma análise univariada foram doença inflamatória intestinal, atividade da doença, linfopenia e doses médias a altas de corticosteroides.

Em uma análise multivariada subsequente, apenas a linfopenia (definida como <1500 células) foi associada a resultados indeterminados de QFT-G-IT. A contagem de linfócitos foi o único fator independentemente associado com um aumento no número de resultados indeterminados de QFT-G-IT em pacientes com diferentes doenças autoimunes. Concluíram também que o uso de doses médias e altas de corticosteroides, devem ser considerados antes do teste com QFT-G-IT.⁽¹²⁾

Latorre et al. avaliaram o impacto de imunossupressores e doenças inflamatórias imunomediadas (DIIM) no Gold In-Tube QuantIFERON-TB (QFN-G-IT) e T-SPOT.

Neste estudo, os pacientes com DIIM que necessitaram de rastreamento de infecção por tuberculose latente (TBL) foram incluídos e classificados em: (I) 50 pacientes com doenças reumáticas inflamatórias, (II) 50 pacientes com psoríase e (III) 30 pacientes com doença de Crohn. Um total de 44 indivíduos saudáveis sem imunossupressão também foram incluídos como controles. Testes cutâneos com tuberculina (PPD), T-SPOT.TB e QFN-G-IT foram realizados.

Os autores observaram que a ingestão de imunossupressores foi mais frequente em pacientes com doença de Crohn e psoríase.

Os resultados positivos de IGRAs e PPD foram reduzidos em pacientes com doença de Crohn, enquanto a taxa de resultados indeterminados de T-SPOT.TB foi aumentada neste grupo em relação às outras DIIM analisadas e controles. Quando a resposta ao IFN- γ foi estudada, os níveis dessa citosina após estimulação mitogênica foram significativamente menores nas doenças reumáticas de Crohn e inflamatórias do que na psoríase. Curiosamente, os pacientes com psoríase foram os únicos que não receberam corticosteróides. Além disso, foi observada uma correlação negativa entre os IFN- γ secretado após estimulação mitogênica e dose de corticosteroides.

Os autores concluíram que a precisão clínica do IGRA para o diagnóstico de TBL parece ser diferencialmente afetada pelo tipo DIIM. Particularmente, a doença de Crohn e / ou seu perfil imunossupressor concomitante pode afetar negativamente a acurácia do T SPOT.TB e QFN-G-IT quando comparado com a psoríase ou doenças reumáticas inflamatórias. Portanto, é importante ser prudente ao diagnosticar TBL neste tipo de pacientes devido à alta frequência de resultados indeterminados e uma resposta atenuada de IFN- γ .⁽¹³⁾

Shahrad Hakimian et al. realizaram um estudo observacional, retrospectivo, em 107 pacientes com doença inflamatória intestinal (DII) e 89 com artrite reumatoide (AR) que foram submetidos a triagem para infecção latente de TB ILTB utilizando o QuantIFERON-TB Gold In-Tube (QFT-GIT) antes do início dos medicamentos anti-TNF.

Os autores observaram uma proporção maior de pacientes com DII apresentou resultado QFT-GIT indeterminado em comparação com pacientes com AR.

Além disso, descobriram que a maioria dos pacientes com resultados indeterminados foi testada durante um surto agudo de DII (88%) e durante o uso de corticosteroides. De todos os pacientes que receberam ≥ 20 mg de dose equivalente de prednisona (n = 32), 63% resultaram em QFT-GIT indeterminado, comparado a apenas 6% de teste indeterminado em pacientes que receberam <20 mg de dose equivalente de prednisona (n = 164, P <0,001). Não houve correlação entre resultados indeterminados

e idade, sexo, duração ou distribuição da doença ou status de tabagismo em cada população.

Concluíram que altas doses de corticosteroides podem afetar os resultados do QFT-GIT, levando a uma alta proporção de resultados indeterminados e propuseram que pacientes com DII devem ser testados antes do início do uso de corticosteroides para evitar resultados ambíguos e prevenir possíveis atrasos no início dos medicamentos anti-TNF.⁽¹⁴⁾

Bélar et al. avaliaram o desempenho do QuantiFERON Gold In-Tube (QFT-IT) e do Tuberculin Skin Test (TST) antes do início da terapia com anti-TNF em 248 pacientes com colite ulcerativa (39), doença de Crohn (54), artrite reumatoide (111) e espondiloartropatia (44). O tratamento com prednisolona foi fortemente associado com PPD negativo, e com um risco aumentado de resultados indeterminados QFT-IT, enquanto nenhum efeito negativo foi encontrado para corticosteróides de ação prolongada. Doses de ≥ 10 mg de prednisolona foram associadas a um risco de 27% de resultados indeterminados. O uso único de azatioprina, metotrexato ou 5-aminossalicilato (5-ASA) não afetou os resultados do teste.⁽¹⁵⁾

Dados limitados estão disponíveis em relação ao uso do QFT-GIT para testar pessoas imunocomprometidas. Em dois estudos com um total de 34 indivíduos infectados pelo HIV com tuberculose ativa de cultura, as sensibilidades do QFT-GIT foram de 81% e 88%.⁽¹⁶⁾ Em outro estudo, as sensibilidades do QFT-GIT e TST foram semelhantes (81% e 85%, respectivamente, $p > 0,99$).⁽¹⁷⁾ A sensibilidade do QFT-GIT não foi significativamente diferente entre as pessoas com infecção pelo HIV do que entre aquelas sem infecção (81% e 73%, respectivamente; $p = 0,59$). Em outro estudo na Zâmbia, envolvendo 112 pessoas (59 foram infectadas pelo HIV, 37 não foram infectadas pelo HIV e 16 não foram testadas) nas quais a tuberculose ativa foi diagnosticada com base na baciloscopia de escarro, QFT-GIT e TST foram significativamente menos sensíveis em pessoas infectadas com o HIV do que em pessoas não infectadas pelo HIV (76% em comparação com 97% para o QFT-GIT; $p = 0,02$ e 55% em comparação com 81% para o TST, $p = 0,04$). Entre as pessoas com infecção pelo HIV, a sensibilidade do QFT-GIT tendeu a ser mais alta que a sensibilidade do TST (76% e 55%, respectivamente; $p = 0,06$). No entanto, neste estudo, a redução da sensibilidade ao TT pode ter resultado da leitura tardia dos TTs, que foram lidos 48-164 horas após a injeção de PPD. Baixas contagens de CD4 foram associadas com aumentos nos resultados de TSTs falso-negativos e resultados QFT-GIT indeterminados e falso-negativos.⁽¹⁸⁾

Uma opção interessante foi sugerida pelo Guidelines for Using Interferon Gamma Release Assays (CDC) que foi a incorporação de uma categoria limítrofe para o teste, aumentando a precisão ao classificar os resultados próximos ao ponto de corte (no qual pequenas variações podem afetar a interpretação) como positivos ou negativos. Outra tática para melhorar a sensibilidade de detecção é usar qualquer resultado positivo de vários testes, como é feito com testes de cultura ou de amplificação de ácido nucleico. Interpretar qualquer resultado positivo de múltiplos testes como evidência de infecção tipicamente aumenta a sensibilidade de detecção e diminui a especificidade. Por outro lado, requerer resultados positivos de dois ou mais testes tipicamente tem o efeito oposto (isto é, sensibilidade decrescente e especificidade crescente).⁽⁷⁾

Igra na população pediátrica

Existem poucos dados de desempenho para os testes QFT-GIT e T-Spot em crianças (especialmente para aqueles com idade < 5 anos). Por esse motivo, e porque as taxas de progressão de infecção latente para doença ativa (incluindo formas graves da doença, como meningite, doença disseminada ou morte como resultado de *M. tuberculosis*) são maiores em lactentes e crianças pequenas, a cautela é justificada quando se utiliza IGRA em crianças com idade < 5 anos.⁽¹⁹⁾

A maior taxa de tuberculose ativa e formas graves da doença em bebês e crianças com idade < 5 anos em comparação com crianças mais velhas sugere que a resposta imune à infecção pelo *M. tuberculosis* difere nestes grupos.⁽²⁰⁾ As diferenças imunológicas relacionadas à idade podem explicar as variações relatadas no desempenho do teste IGRA, incluindo menor sensibilidade do teste e menor produção de $IFN-\gamma$ em resposta a antígenos micobacterianos e mitógeno (usado como controle positivo) entre crianças com idade < 4 anos com crianças de 4 a 15 anos⁽²⁰⁾, aumento da resposta ao mitógeno com o aumento da idade⁽²¹⁾ e maior proporção de resultados de QFT-GIT indeterminado em crianças com idade < 5 anos. Em contraste, um grande estudo em um cenário endêmico de tuberculose descobriu que lactentes e crianças jovens tinham respostas robustas de $IFN-\gamma$ aos antígenos de *M. tuberculosis* e que suas respostas eram comparáveis às respostas em adultos e crianças mais velhas.⁽²²⁾

O uso de IGRAs em crianças está sujeito a várias limitações especialmente porque estudos avaliando o desempenho do IGRA em crianças são escassos. Em apenas alguns estudos são fornecidos resultados separados para crianças, e ainda menos estudos dividem os resultados por categorias de idade limitadas.

Vallada et al. Avaliaram 195 crianças previamente vacinadas com BCG, sendo 184 saudáveis, sem evidência clínica ou epidemiológica de infecção pelo *M. tuberculosis*, e 11 com infecção, definida de acordo com critérios clínicos, radiológicos e laboratoriais. No grupo de 184 crianças não infectadas, 177 (96,2%) tiveram resultado negativo do teste, seis (3,2%) apresentaram resultado indeterminado e uma (0,5%) teve resultado positivo. No grupo de 11 crianças com infecção, duas (18%) apresentaram resultado negativo.

Os autores observaram, portanto, um alto valor preditivo negativo do teste, parâmetro útil para a exclusão da tuberculose na prática clínica, reduzindo, assim, a prescrição de quimioterapia desnecessária em crianças, e a surpreendentemente baixa percentagem de resultados indeterminados (3,2%). Concluíram no entanto, que com a sensibilidade de 81,8%, apesar de cumprir os critérios da OMS de pelo menos 80%, não se recomenda o QFT-G como o único parâmetro laboratorial para definir a tuberculose em crianças.⁽²³⁾

Gabriele et al. avaliaram o desempenho do interferon ($IFN-\gamma$) QuantiFERON[®]-TB Gold In-Tube para a detecção de infecção latente por tuberculose (TBL) em 79 crianças que recebem tratamento anti-reumático em um hospital de referência terciária do Norte Grécia. Concluíram que o QuantiFERON pode ser um teste mais confiável do que o PPD para detecção de TBL em crianças com doenças reumáticas que recebem tratamento anti-reumático. O regime farmacológico pode influenciar a secreção de $IFN-\gamma$ induzida por mitógeno e o efeito dos inibidores de $TNF-\alpha$ pode variar de acordo com o agente específico administrado.⁽²⁴⁾

Muitos autores consideram que o PPD é preferido para testar crianças com idade <5 anos. O uso de um IGRA em conjunto com o PPD tem sido defendido por alguns especialistas para aumentar a sensibilidade diagnóstica nessa faixa etária. Recomendações sobre o uso de IGRAs em crianças também foram publicadas pela American Academy of Pediatrics.⁽²⁵⁾

Lições sobre o teste de Igra nos pacientes com uveíte

La Distia Nora et al. avaliaram as manifestações clínicas de 77 pacientes com uveíte e esclerite de origem desconhecida e teste QuantiFERON Gold In-Tube positivo (quantiferon) em um país não endêmico para tuberculose.

As características oculares de pacientes com uveíte idiopática e quantiferon positivo foram diversas, mas vasculite oclusiva retiniana e coroidite serpiginosa foram comuns. Os níveis de quantiferon foram geralmente muito elevados e 33% dos pacientes exibiram linfadenopatia, sugerindo frequentemente o diagnóstico de sarcoidose.⁽²⁶⁾

Este achado com relação a possibilidade de sarcoidose chamou muita a atenção. Um terço dos nossos pacientes exibiram adenopatia mediastinal / hilar, dos quais a maioria da adenopatia foi consistente com o diagnóstico de sarcoidose. As características histológicas, bem como os resultados negativos de coloração, culturas e PCR para *M tuberculosis* em 9 de 12 biópsias de linfonodos foram considerados consistentes com o diagnóstico de sarcoidose. Foi levantada pelos autores a possibilidade destes testes diagnósticos não serem sensíveis o bastante para revelar micobactérias ou que isso poderia ser atribuído a um erro amostral, já que a presença de micobactérias no tecido linfonodal pode ser escassa. Em contraste, estes achados poderiam também indicar que um tipo específico de reação sarcoide poderia ocorrer desencadeada por infecção por TB. Estes achados enfatizaram a possível relação entre infecção por *M. tuberculosis* e desenvolvimento de linfonodos hilares e / ou mediastinais aumentados, consistentes com o diagnóstico de sarcoidose. A associação de tuberculose e sarcoidose tem sido repetidamente relatada e vários estudos sugerem que antígenos micobacterianos podem representar o agente incitante em uma proporção de pacientes com sarcoidose. Os resultados do Quantiferon também parecem ser confiáveis em pacientes com sarcoidose, em contraste com sua anergia ao teste cutâneo da tuberculina.

A inflamação ocular reagiu favoravelmente a terapia antituberculosa, embora apenas uma pequena minoria tivesse tuberculose prévia documentada.

Apesar de extensas investigações, incluindo o IGRA, o diagnóstico de tuberculose intraocular (TB) ainda é desafiador e permanece predominantemente presuntiva. De acordo com a literatura, parece que o manejo da suspeita de TB ocular difere significativamente com base em se os pacientes são provenientes de áreas de alta prevalência de TB ou de países não endêmicos para TB. A precisão e a contribuição final das radiografias de tórax, teste tuberculínico e IGRA diferem significativamente de acordo com as áreas de baixa ou alta endemia de TB. Diretrizes distintas devam ser determinadas para o manejo de pacientes com suspeita de TB ocular, primeiro levando em consideração a prevalência relativa de TB.⁽²⁷⁾

A especificidade relatada do QFT para tuberculose pulmonar e na forma latente varia de 91% -99%, mas a sensibilidade relatada é um pouco menor (89% -91%). Como

tal, separando os verdadeiros positivos dos falsos positivos e decidindo quando iniciar o tratamento anti-TB ainda requer uma análise caso-a-caso em pacientes com uveíte. Um teste negativo exclui efetivamente a tuberculose, mas um número substancial de testes positivos é falso-positivo. As razões para resultados falso-positivos podem incluir reatividade cruzada com infecção pulmonar e ocular por *Mycobacterium kansasii* ou exposição a um número limitado de outras micobactérias não tuberculosas. Falsos positivos também foram relatados em conexão com um defeito inespecífico no frasco do ensaio. No caso em que a alta suspeita de um resultado falso-positivo se desenvolve, uma opção aberta ao clínico é repetir o teste. O teste negativo sem tratamento foi relatado em pacientes com uveíte com um resultado QFT positivo e características da doença não sugestivas de infecção micobacteriana verdadeira.^(28,29)

Babu et al. reveram os resultados do QuantiFERON TB Gold (QFT-G) em 82 pacientes de tuberculose ocular presumida e o efeito da terapia antitubercular no resultado QFT-G. Observaram que não houve diferenças estatisticamente significativas nos resultados de QFT-G com a idade, sexo, história de esteroides orais, ou tipo de uveíte. Houve associação estatisticamente significativa entre QFT-G positivo e coroidite serpiginosa. A maioria dos pacientes apresentou QFT positivo mesmo após a conclusão da terapia, mas com uma queda significativa nos valores médios após o tratamento. Os autores concluíram que existiu uma associação significativa de QFT positivo com coroidite serpiginosa e positividade persistente mesmo após o término da terapia na maioria dos casos. Houve, no entanto, uma queda nos valores médios de QFT-G pós tratamento.⁽³⁰⁾

Um achado curioso também observado em outro estudo foi que os oftalmologistas e reumatologistas usam este teste Quantiferon TB Gold mais frequentemente do que os pneumologistas.

Isto é provavelmente devido ao fato de que oftalmologistas e reumatologistas veem mais de tuberculose latente em sua prática e dependem de evidências indiretas como o teste de Mantoux e teste Quantiferon TB Gold para um diagnóstico, enquanto os pneumologistas veem a TB ativa com mais frequência e dependem evidências diretas como biópsia ou cultura para um diagnóstico de TB e, portanto, raramente usam o teste de Mantoux e Quantiferon Teste TB Gold em suas práticas.⁽³¹⁾

CONCLUSÃO

A detecção precisa da infecção latente por tuberculose está se tornando cada vez mais importante devido ao aumento do uso de medicamentos imunossupressores e da epidemia de imunodeficiência humana, o que aumentou o risco de reativação à tuberculose ativa (TB).

O Teste IGRA QuantiFERON® TB Gold apresenta vantagens frente ao teste de PPD como por exemplor requer uma coleta de amostra sanguínea simples; não há necessidade que o paciente retorne ao laboratório para leitura e interpretação dos resultados; Os resultados são objetivos, não requerem interpretação do leitor ou interferência de critérios subjetivos; trata-se de um teste *in vitro*, portanto não há “efeito booster” (potenciação da reação tuberculínica); o teste não é afetado por vacinação prévia por BCG

ou infecção por outras espécies de micobactérias.

Limitações são descritas, apesar de raras, como reações cruzadas deste método com infecções por algumas espécies de micobactérias não-tuberculosis (incluindo *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium szulgai* e *Mycobacterium marinum*).

Ainda há poucos dados sobre o teste IGRA em certas populações, como por exemplo, em crianças, pacientes imunocomprometidos e mulheres grávidas. Nestes grupos, a interpretação do teste pode ser difícil e mais estudos se fazem necessários.

Portanto o teste IGRA, é mais eficaz na detecção da infecção por TB do que o PPD. Apesar do custo mais elevado, ele tem valor agregado e pode ser solicitado além do PPD.

REFERÊNCIAS

- World Health Organization (WHO). Global Tuberculosis Report 2015. Geneva: WHO; 2015.
- World Health Organization (WHO). Treatment of Tuberculosis: Guidelines for National Programmes. 3rd ed. Geneva: WHO; 2003.
- Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K; IGRA Expert Committee; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection - United States, 2010. *MMWR Recomm Rep*. 2010;59 RR-5:1-25.
- Liebeschuetz S, Bamber S, Ewer K, Deeks J, Pathan AA, Lalvani A. Diagnosis of tuberculosis in South African children with a T-cell-based assay: a prospective cohort study. *Lancet*. 2004;364(9452):2196-203.
- Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, Iademarco MF, Metchock B, Vernon A; Division of Tuberculosis Elimination, National Center for HIV, STD, and TB Prevention, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States. *MMWR Recomm Rep*. 2005;54 RR-15:49-55.
- Meier T, Eulenbruch HP, Wrighton-Smith P, Enders G, Regnath T. Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot assay (T SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005;24(8):529-36.
- Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K; IGRA Expert Committee; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection - United States, 2010. *MMWR Recomm Rep*. 2010;59(RR-5):1-25.
- Dinnes J, Deeks J, Kunst H, Gibson A, Cummins E, Waugh N, et al. A systematic review of rapid diagnostic tests for the detection of tuberculosis infection. *Health Technol Assess*. 2007;11(3):1-196.
- Nyendak MR, Lewinsohn DA, Lewinsohn DM. New diagnostic methods for tuberculosis. *Curr Opin Infect Dis*. 2009;22(2):174-82.
- Pai M, Denkinger CM, Kik SV, Rangaka MX, Zwerling A, Oxlade O, et al. Gamma interferon release assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(1):3-20.
- Chang B, Park HY, Jeon K, Ahn JK, Cha HS, Koh EM, et al. Interferon- γ release assay in the diagnosis of latent tuberculosis infection in arthritis patients treated with tumor necrosis factor antagonists in Korea. *Clin Rheumatol*. 2011;30(12):1535-41.
- González-Moreno J, García-Gasalla M, Losada-López I, Cifuentes Luna C, Mir Viladrich I, Fernández-Baca V, et al. IGRA testing in patients with immune-mediated inflammatory diseases: which factors influence the results? *Rheumatol Int*. 2018;38(2):267-73.
- Latorre I, Mínguez S, Carrascosa JM, Naves J, Villar-Hernández R, Muriel B, et al. Immune-mediated inflammatory diseases differently affect IGRAs' accuracy for latent tuberculosis infection diagnosis in clinical practice. *PLoS One*. 2017;12(12):e0189202.
- Hakimian S, Popov Y, Rupawala AH, Salomon-Escoto K, Hatch S, Pellish R. The conundrum of indeterminate QuantiFERON-TB Gold results before anti-tumor necrosis factor initiation. *Biologics*. 2018;12:61-7.
- Bélarde E, Semb S, Ruhwald M, Werlinrud AM, Soborg B, Jensen FK, et al. Prednisolone treatment affects the performance of the QuantiFERON gold in-tube test and the tuberculin skin test in patients with autoimmune disorders screened for latent tuberculosis infection. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17(11):2340-9.
- Aichelburg MC, Rieger A, Breitenacker F, Pfistershammer K, Tittes J, Eltz S, et al. Detection and prediction of active tuberculosis disease by a whole-blood interferon-gamma release assay in HIV-1-infected individuals. *Clin Infect Dis*. 2009;48(7):954-62.
- Tsiouris SJ, Coetzee D, Toro PL, Austin J, Stein Z, El-Sadr W. Sensitivity analysis and potential uses of a novel gamma interferon release assay for diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol*. 2006;44(8):2844-50.
- Raby E, Moyo M, Devendra A, Banda J, De Haas P, Ayles H, et al. The effects of HIV on the sensitivity of a whole blood IFN-gamma release assay in Zambian adults with active tuberculosis. *PLoS One*. 2008;3(6):e2489.
- Newton SM, Brent AJ, Anderson S, Whittaker E, Kampmann B. Paediatric tuberculosis. *Lancet Infect Dis*. 2008;8(8):498-510.
- Kampmann B, Tena-Coki G, Anderson S. Blood tests for diagnosis of tuberculosis. *Lancet*. 2006;368(9532):282-3.
- Connell TG, Curtis N, Ranganathan SC, Buttery JP. Performance of a whole blood interferon gamma assay for detecting latent infection with *Mycobacterium tuberculosis* in children. *Torax* 2006;61(7):616-20.
- Lewinsohn DA, Zalwango S, Stein CM, Mayanja-Kizza H, Okwera A, Boom WH, et al. Whole blood interferon-gamma responses to mycobacterium tuberculosis antigens in young household contacts of persons with tuberculosis in Uganda. *PLoS One*. 2008;3(10):e3407.
- Vallada MG, Okay TS, Del Negro GM, Antonio CA, Yamamoto L, Ramos SR. Accuracy of the QuantiFERON-TB Gold in Tube for diagnosing tuberculosis in a young pediatric population previously vaccinated with Bacille Calmette-Guérin. *Rev Paul Pediatr*. 2014;32(1):4-10.
- Gabriele F, Trachana M, Simitsopoulou M, Pratsidou-Gertsi P, Iosifidis E, Pana ZD, et al. Performance of QuantiFERON®-TB Gold In-Tube assay in children receiving disease modifying anti-rheumatic drugs. *World J Pediatr*. 2017;13(5):472-8.
- Pickering LK, Baker CJ, Kimberlin DW, Long SS, editors. Red Book: 2009 report of the Committee on Infectious Disease. 28th ed. Elk Grove Village (IL): American Academy of Pediatrics; 2009. p. 680-701.
- La Distia Nora R, van Velthoven ME, Ten Dam-van Loon NH, Misotten T, Bakker M, van Hagen MP, et al. Clinical manifestations of patients with intraocular inflammation and positive QuantiFERON-TB gold in-tube test in a country nonendemic for tuberculosis. *Am J Ophthalmol*. 2014;157(4):754-61.
- Trad S. Authors reply to Letter to the Editor-In response to: "Tripathy, K. Update on Immunological Test (Quantiferon-TB Gold) Contribution in the Management of Tuberculosis-Related Ocular Inflammation". *Ocul Immunol Inflamm*. 2017 Oct 11:1.
- Pepple KL, Van Gelder R, Forooghian F. Caveats about

- QuantiFERON-TB gold in-tube testing for uveitis. *Am J Ophthalmol.* 2014;157(4):752-3.
29. Caspers L, Makhoul D, Ebraert H, Michel O, Willermann F. Clinical manifestations of patients with intraocular inflammation and positive QuantiFERON-TB gold in-tube test in a country nonendemic for tuberculosis. *Am J Ophthalmol.* 2014;158(3):646-7.
30. Babu K, Bhat SS, Philips M, Subbakrishna DK. Review of Results of QuantiFERON TB Gold Test in Presumed Ocular Tuberculosis in a South Indian Patient Population. *Ocul Immunol Inflamm.* 2016;24(5):498-502.
31. Babu K, Philips M, Subbakrishna DK. Perspectives of Quantiferon TB Gold test among Indian practitioners: a survey. *J Ophthalmic Inflamm Infect.* 2013;3(1):9.
-
- Autor correspondente:**
Rubens Camargo Siqueira
e-mail: Contato@rubenssiqueira.com.br
Rua Saldanha Marinho, 2815 - sala 42 - Centro
São José do Rio Preto - SP - CEP15010-100