

Raquel Duarte¹

Teste tuberculínico. Como otimizar?

Tuberculin skin test. How to optimise?

Recebido para publicação/received for publication: 08.09.29

Aceite para publicação/accepted for publication: 08.11.10

Resumo

Os testes utilizados no diagnóstico de infecção latente pelo *Mycobacterium tuberculosis*, o teste tuberculínico e o doseamento do interferão gama (IGRA) identificam a existência de uma resposta imunológica adaptativa de memória contra os antígenos micobacterianos. Considerando as limitações dos dois testes, a melhor solução passa por tirar proveito das melhores características de cada um. A maior parte dos autores concorda com a utilização dos dois testes, utilizando os IGRA sobretudo na confirmação da positividade do teste tuberculínico (tirando proveito da sua maior especificidade).

As características operativas do teste tuberculínico dependem da prevalência da doença na comunidade e dos objectivos da sua realização (as suas características são superiores quando utilizada no âmbito de rastreio ou como teste diagnóstico). Para interpretar correctamente um teste tuberculínico, o clínico deve conhecer a epidemiologia da tuberculose na comunidade e definir correctamente as indicações para a sua realização.

Rev Port Pneumol 2009; XV (2): 295-304

Palavras-chave: Tuberculose, teste tuberculínico, Mantoux.

Abstract

The tests used in the diagnosis of tuberculosis latent infection, the tuberculin skin test (TST) and the interferon-gamma assays (IGRA), identify the existence of an adaptive immune response towards mycobacterial antigens. Considering the limitations of the two tests, the best solution is to take advantage of the best characteristics of each one. Most of the authors agree to the use of the two tests, using the IGRAS in the confirmation of a positive TST (because of its higher specificity). The operative characteristics of TST depend on the prevalence of the illness in the community and the aim of its use (its operative characteristics are higher when used in the tracing scope or as a diagnostic test). To interpret correctly a TST, the physician must know the epidemiology of tuberculosis in the community and correctly define the indications for its use.

Rev Port Pneumol 2009; XV (2): 295-304

Key-words: Tuberculosis, tuberculin skin test, Mantoux.

¹ Assistente Hospitalar de Pneumologia

A estratégia de controlo da tuberculose tem como objectivo a redução da incidência da infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*

Introdução

A tuberculose persiste como um problema de saúde pública. Duas grandes estratégias se definem perante a tuberculose, de acordo com a magnitude do problema na comunidade e o objectivo pretendido.

A estratégia de controlo da tuberculose tem como objectivo a redução da incidência da infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis* (MT) através da detecção de casos e intervenção terapêutica eficaz nos indivíduos infectantes. Esta estratégia permitirá que as próximas gerações estejam cada vez menos infectadas como resultado da diminuição do risco de transmissão.

A estratégia de eliminação da tuberculose requer como actividade adicional a redução da prevalência de infecção pelo MT através da identificação e tratamento eficaz dos indivíduos com infecção latente, evitando que fiquem doentes no futuro.

Os testes utilizados no diagnóstico de infecção latente pelo MT, o teste tuberculínico e o doseamento do interferão gama (IGRA) identificam a existência de uma resposta imunológica adaptativa contra os antígenos micobacterianos¹. Não é possível, até à presente data, identificar quem são as pessoas que realmente se mantêm infectadas após conversão do teste tuberculínico ou do IGRA, assim como saber durante quanto tempo persiste essa memória imunológica adaptativa após a morte da micobactéria². Assim, devem ser efectuados apenas naqueles indivíduos que têm maior risco de estar realmente infectados (por exemplo: contactos recentes de doentes com tuberculose bacilífera). Pela mesma razão estes testes não permitem fazer a distinção entre tuberculose latente e doença activa, não devendo ser utilizados para fazer o diagnóstico de doença.

Os dois testes têm vantagens e desvantagens. O teste tuberculínico é usado mundialmente há mais de uma centena de anos e as suas características e limitações são bem conhecidas. Tem a vantagem de ser fácil de executar, ser barato e não exigir qualquer infraestrutura laboratorial. Tem a desvantagem de depender da pessoa que executa a técnica e da possibilidade de ocorrência de falsos positivos associada à vacinação com o bacilo Calmette Guerin (BCG) e à infecção por outras micobactérias não tuberculosas. A existência destas reacções cruzadas está significativamente reduzida com os IGRAS. Contudo, este teste exige infraestrutura laboratorial e transporte rápido das amostras. A maior parte dos autores concorda com a utilização dos dois testes, utilizando os IGRAS sobretudo na confirmação da positividade do teste tuberculínico (tirando proveito da sua maior especificidade).

Considerando as limitações dos dois testes, a melhor solução será tirar proveito das melhores características de cada um.

Teste tuberculínico

Cerca de 8 anos após a descoberta do MT, Robert Koch anuncia a descoberta da cura da tuberculose. Tinha preparado um concentrado feito a partir das culturas de MT mortas por aquecimento e descoberto que este material tinha capacidade de proteger de tuberculose animais de laboratório. Chamou a este material tuberculina e relatou a cura de doentes seleccionados com tuberculose após a administração desta substância. Estes resultados não se vieram a confirmar. Contudo, apesar do fracasso desta substância como terapêutica, a tuberculina rapidamente ganhou importância como

teste diagnóstico. Os doentes que receberam tuberculina com intuito terapêutico tiveram reacções sistémicas generalizadas com febre, mialgias, dores abdominais, náuseas e vómitos. Os indivíduos sem tuberculose não desenvolveram estas reacções, pelo que os investigadores sugeriram que esta substância fosse usada como teste diagnóstico. A aplicação local de tuberculina evitava o aparecimento das reacções sistémicas e providenciava um método local de determinação de hipersensibilidade à substância. A injeção intradérmica de tuberculina foi descrita por Mantoux, tornando-se este método universal dada a reprodutibilidade dos resultados^{1,2,3,4}.

Apesar dos resultados do teste estarem dependentes da variabilidade da reactividade imunológica dos indivíduos, as características deste teste são em tudo semelhantes a muitos outros usados na prática clínica. O valor preditivo do teste é influenciado pela prevalência da doença na população. Se a probabilidade de infecção for menor que 1%, o valor preditivo positivo de qualquer teste será sempre baixo.

Sensibilidade

Na ausência de um teste que determine com certeza se um indivíduo está realmente infectado ou não com MT, a sensibilidade do teste tuberculínico na detecção de tuberculose latente não pode ser determinada com certeza. As estimativas do valor de sensibilidade derivaram de estudos efectuados em indivíduos doentes.

Berkel publicou um trabalho em que fazia a estimativa dos valores preditivos positivos e negativos do teste tuberculínico estudando 312 doentes e 2848 indivíduos saudáveis

não vacinados com BCG. A sensibilidade do teste foi de 95,4% (*cut-off* de 10 mm) descendo para 79,8% se se subir o *cut-off* de positividade do teste para 15 mm⁵.

Embora a sensibilidade do teste tuberculínico no diagnóstico de tuberculose latente não possa ser seguramente determinada, podemos assumir que rondará os mesmos valores encontrados em indivíduos doentes em fase de estabilização da sua doença, após o início de tratamento – 95%.

A grande fraqueza do teste tuberculínico é a possibilidade de existência de falsos negativos. A anergia em doentes imunocomprometidos (infectados pelo vírus de imunodeficiência humana, doentes a fazer tratamento imunossupressor) pode resultar em diminuição da sensibilidade do teste⁶.

Especificidade

Tal como com a sensibilidade, a falta de um método independente que confirme a infecção faz com que não possa ser determinado com certeza o valor de especificidade do teste. A grande causa de falsos positivos em indivíduos não infectados deve-se à vacinação pelo bacilo Calmette-Guérin (BCG) ou por contacto ambiental com outras micobactérias.

Os estudos de grande escala efectuados com teste tuberculínico revelaram grande variabilidade geográfica. Em áreas onde a infecção por micobactérias ambientais é pouco frequente e a população não é vacinada com o BCG, a distribuição das reacções cutâneas ao teste tuberculínico aproxima-se da apresentada na Fig. 1. Esta distribuição é semelhante aos resultados obtidos nos testes de doentes com tuberculose activa, presumindo-se que existirão poucos falsos positivos^{3,4}.

A grande fraqueza do teste tuberculínico é a possibilidade de existência de falsos negativos

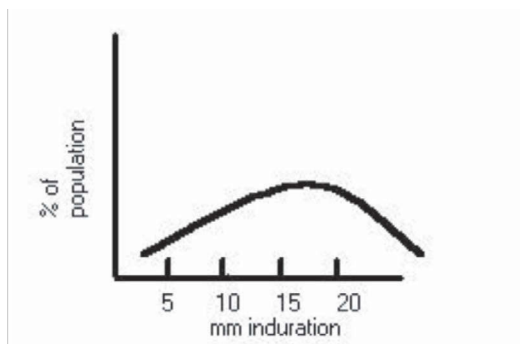


Fig. 1 – Distribuição de reacção cutânea numa população sem reacções cruzadas

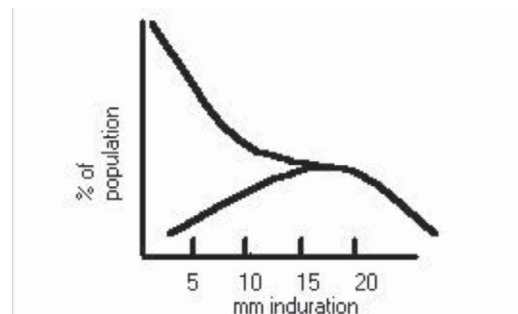


Fig. 2 – Distribuição de reacção cutânea numa população com muitas reacções cruzadas

Nos locais onde é efectuada vacinação com o BCG ou onde a infecção por outras micobactérias ambientais é frequente, a distribuição das reacções cutâneas ao teste tuberculínico aproxima-se da apresentada na Fig. 2. Neste caso ocorrerão muitos falsos positivos. Nesta população pode-se minimizar os falsos positivos e melhorar a especificidade do teste com o aumento do limiar de positividade. No mesmo trabalho publicado por Berkel, a especificidade do teste tuberculínico foi de 96,3% (*cut-off* de 10 mm) e de 97,1% (*cut-off* de 15 mm) com um valor preditivo positivo superior a 75% (prevalência de tuberculose na população superior a 10%)⁵.

Estimativa da eficácia e eficiência do tratamento de tuberculose latente com base no teste tuberculínico

Quase todas as informações sobre intervenções em tuberculose latente são baseadas em populações com alta prevalência de tuberculose, apresentando assim um valor preditivo positivo para o teste tuberculínico alto. Uma das intervenções mais importantes neste grupo é a terapêutica preventiva. A estimativa da eficácia e eficiência da medicação preventiva é baseada

em dados de populações onde um valor de tuberculina positiva está associado com grande probabilidade a uma verdadeira infecção.

Os trabalhos publicados têm mostrado que o tratamento de indivíduos com teste tuberculínico positivo reduz o risco de tuberculose doença em 60-90%^{6,7,8,9}.

A questão coloca-se com frequência em grupos de risco onde o teste tuberculínico se revela menos eficaz. A revisão efectuada pela *Cochrane Database System Review* em 2005 inclui onze artigos com um total de 8130 participantes, revelando que nos doentes com infecção pelo vírus de imunodeficiência humana o tratamento de tuberculose latente condiciona menor evolução para a doença ($rr=0,64\%$), sendo este efeito mais pronunciado em indivíduos com teste tuberculínico positivo ($rr=0,38$ vs $rr=0,83$)¹⁰.

Que críticas têm sido levantadas em relação ao teste tuberculínico?

1. Ausência de um valor objectivo de positividade;
2. Diminuição da sensibilidade em grupos de risco para tuberculose;

3. Especificidade condicionada por reacções cruzadas com vacinação com BCG e infecção com micobactérias não tuberculosas;
4. Requerer duas visitas à unidade de saúde e exigir que seja feito por pessoal treinado;
5. Persistem as dúvidas em relação aos testes falsos positivos – que obrigará a tratar indivíduos sem infecção – e aos falsos negativos – com consequente não tratamento de indivíduos realmente infectados.

O que há de novo?

Um dos últimos avanços científicos permitiu a identificação de proteínas (ESAT-6 e CFP10) codificadas na região RD1 do genoma do MT. Nos indivíduos com tuberculose latente, as células T produzem interferão- γ em resposta aos antígenos do MT. Os novos testes envolvem a estimulação de linfócitos sanguíneos com ESAT-6 ou CFP10, seguido de medição/detecção do interferon- γ produzido. A tuberculose activa está associada a menor produção de interferon- γ , parecendo relacionar-se com a gravidade da doença e tempo de tratamento^{11,12,13,14}.

A determinação da sensibilidade ou especificidade deste teste tem os mesmos problemas do teste tuberculínico – falta um teste fiel *standard* de diagnóstico de tuberculose latente.

Os estudos efectuados comparando este teste com o teste tuberculínico mostram que tem maior especificidade (89 a 100%) e semelhante sensibilidade (58 a 89%) em doentes com tuberculose doença correlacionando-se melhor com o risco de infecção^{15,16,17,18}.

Só exige uma ida à unidade de saúde, mas por outro lado exige que seja efectuada uma flebotomia e apoio laboratorial (o produto tem de ser entregue em 12/24 horas ao laboratório).

Há grande interesse em avaliar o potencial destes novos testes nos doentes VIH+ e nas crianças, tendo-se iniciado investigação nestes grupos. Nos estudos efectuados subsiste a dúvida da possibilidade de haver repercussão do estado de imunossupressão do doente na *performance* destes novos testes¹⁹.

Para já, o teste tuberculínico continua a ser o teste-padrão no diagnóstico de tuberculose latente. Com o aparecimento de mais estudos que avaliem os novos testes em populações de baixo e alto risco, prevê-se que rapidamente se vai definir o papel de cada um dos testes no controlo da tuberculose – como teste de rastreio único ou como testes complementares^{20,21}.

Os testes de doseamento do interferão- γ serão particularmente úteis em países de baixa prevalência de tuberculose (VPP baixo) onde haja dificuldade de leitura do teste tuberculínico por reacções cruzadas com BCG, enquanto o teste tuberculínico continuará a ser utilizado em países com alta prevalência de tuberculose (VPP alto) e com baixos recursos.

À medida que a prevalência de tuberculose doença diminui, ocorre simultaneamente uma diminuição da tuberculose latente, aumentando proporcionalmente os casos de testes tuberculínicos falsamente positivos. Estes novos testes mais específicos serão ferramentas importantes nos programas de eliminação da doença.

Devemos tentar otimizar os testes disponíveis e definir correctamente como se devem articular.

Os testes de doseamento do interferão- γ serão particularmente úteis em países de baixa prevalência de tuberculose

Como otimizar o teste tuberculínico?

Tuberculina PPD RT23

A tuberculina PPD RT 23 SSI é produzida pelo Statens Serum Institut (SSI) desde 1955, estando testada extensivamente a nível mundial em todos os grupos etários. É esta a tuberculina aprovada pela OMS e a que é utilizada nos estudos populacionais que permitem determinar a prevalência de infecção por *M. tuberculosis* na comunidade²².

A dose recomendada da tuberculina PPD RT23 com objectivo diagnóstico é de 2 T.U para todas as populações e grupos etários²³.

Interpretação do teste tuberculínico

Porque são utilizados diferentes cut-offs

Como vimos, as características operativas do teste tuberculínico dependem da prevalência da doença na comunidade e dos objectivos da sua realização (as suas características são superiores quando utilizada no âmbito de rastreio ou como teste diagnóstico de tuberculose latente)²⁴. Para interpretar correctamente um teste tuberculínico, o clínico deve conhecer a epidemiologia da tuberculose na comunidade e definir correctamente as indicações para a sua realização. Na interpretação do teste deve ter-se em conta:

Prevalência da doença na comunidade

O valor preditivo de um teste positivo em países de baixa prevalência da doença é baixo porque, na ausência de factores de risco para a doença²⁴, um resultado positivo é muito provavelmente um falso positivo (se a doença não existe, a probabilidade de aquele teste traduzir doença é muito baixa). O con-

trário ocorre em países de alta prevalência da doença. Outros factores a ter em conta na interpretação do teste tuberculínico são a prevalência de infecção por micobactérias não tuberculosas na comunidade e a taxa de vacinação com BCG.

Porque se faz o teste?

As características operacionais do teste aumentam se for efectuado em pessoas que se suspeita terem infecção (rastreio de contactos, rastreio de populações de risco ou com suspeita de doença)²⁴.

Só se deve fazer o teste tuberculínico com a intenção de actuar perante o resultado obtido. Isto é,

- Na avaliação prévia à vacinação com BCG – a realização de teste tuberculínico antes da administração da vacina BCG está recomendada, uma vez que permitirá prevenir complicações associadas à preexistência de resposta imune contra os antigénios micobacterianos^{25,26,27}. A criança é vacinada se o teste for negativo (< 5 mm). A vacinação está contra-indicada se a criança for imunodeprimida;
- No rastreio de contactos de doentes com tuberculose ou em populações de risco – um teste tuberculínico positivo, com um indivíduo assintomático, com radiografia pulmonar normal, é diagnóstico de tuberculose latente. Estes indivíduos devem ser tratados²⁸;
- Perante suspeita de doença – o teste tuberculínico não tem utilidade como diagnóstico de tuberculose activa, podendo contudo servir como orientador do diagnóstico. O diagnóstico de tuberculose é microbiológico;

- No controlo de transmissão nosocomial em serviços de saúde.

A quem se faz o teste?

Excluindo a realização do teste tuberculínico prévia à vacinação com BCG, na grande maioria dos casos o teste tuberculínico é usado com o objectivo de diagnosticar tuberculose latente em indivíduos com risco de infecção e com o objectivo de tratar, se o teste for positivo.

Tem de ser ponderado o risco de infecção pelo *M. tuberculosis*/risco de evolução de infecção para doença/probabilidade de gravidade se evolução para doença.

- Na avaliação do risco de infecção – analisa-se história de contacto com TB;
- Risco de evolução infecção/doença – cerca de 10% dos indivíduos infectados irão desenvolver doença em alguma altura da vida, sendo esse risco maior nos dois anos que se seguem à infecção. Esse risco é substancialmente maior nas crianças com menos de 6 anos e nos doentes imunodeprimidos^{29,30,31};
- Alguns grupos (nos quais se incluem as crianças com menos de 6 anos e os indivíduos imunodeprimidos) têm maior risco de manifestações graves de tuberculose, potencialmente fatais ou com sequelas graves^{32,33}.

Assim se chegam aos cut-offs

O tratamento da tuberculose latente reduz em 60 a 90% o risco de evolução infecção/doença^{6,7,8,9}. Tem no entanto alguns riscos, nos quais se incluem a hepatotoxicidade.

Assim, com os diferentes *cut-offs* pretende-se diagnosticar e tratar todo o indivíduo em risco de infecção, particularmente aqueles para

quem o risco de evolução infecção/doença é maior e que tem maior risco de manifestações graves da doença. Neste grupo não se quer deixar ninguém sem tratar. Assim, tenta-se aumentar o valor preditivo negativo do teste (queremos ter a certeza de que um valor negativo é mesmo negativo – vamos seguramente tratar alguém que não tem infecção). Neste grupo baixamos o *cut-off*.

Por outro lado, nos indivíduos em que o risco de infecção é baixo, em que o risco de evolução infecção/doença é baixo e que mesmo que haja evolução para doença a probabilidade de ocorrer formas graves é baixa, pretende-se sobretudo ter a certeza de que não se está a tratar (correndo os riscos que um tratamento acarreta) sem necessidade. Assim, tenta-se aumentar o valor preditivo positivo (só vamos tratar aqueles que temos a certeza de que estão mesmo infectados). Neste grupo subimos o *cut-off*.

Em Portugal

Portugal apresenta uma incidência de tuberculose de 30/100 000 e tem uma cobertura vacinal pelo BCG de 95%³⁴.

Interpretação do teste tuberculínico

- Consideram-se não reactivos os indivíduos com valores de induração <5 mm;
- Consideram-se infectados se as indurações forem:
 - ≥ 5 mm em crianças sem vacinação prévia com BCG ou indivíduos imunodeprimidos;
 - ≥ 10 mm em contactos recentes com doente bacilífero, sem BCG recente;
 - ≥ 15 mm qualquer que seja o estado vacinal e de contacto.

Considera-se também infecção se houver um aumento de 10 mm entre duas provas tuberculínicas realizadas com intervalo máximo de 2 anos ou se se verificar passagem de não reactiva a reactiva (**conversão tuberculínica recente**).

No nosso país, a alta taxa de vacinação pelo BCG e a elevada prevalência de tuberculose origina que no adulto se encontrem frequentemente reacções positivas à tuberculina (superiores a 10 mm). A utilização sistemática de tratamento preventivo em todos os indivíduos nesta situação não seria exequível e provavelmente seria inadequada face às características epidemiológicas da nossa população. Tem-se preferido assim valorizar um valor de prova tuberculínica com maior especificidade, embora menos sensível (> 15 mm). O aparecimento dos novos testes com maior especificidade permitirá alterar esta prática com uma melhor caracterização destes testes positivos (graças à sua maior especificidade).

Comentário

Ainda não temos disponível um teste que consiga definir com certeza quem são os indivíduos infectados com MT que irão beneficiar de tratamento de tuberculose latente. Os dois testes disponíveis conseguem apenas identificar a existência de uma resposta imunológica adaptativa de memória contra os antígenos micobacterianos. Não conseguem identificar quem são as pessoas que realmente se mantêm infectadas após conversão do teste tuberculínico ou do IGRA, nem saber durante quanto tempo persiste essa memória imunológica adaptativa após a morte da micobactéria. Sabemos contudo que o tratamento da tuberculose latente, efectuado com base nos

resultados positivos desses testes, reduz o risco de evolução para tuberculose activa. São portanto testes importantes na estratégia de eliminação da tuberculose.

Enquanto não surgirem outros testes que nos respondam às dúvidas que estes nos colocam, há que optimizá-los. Temos actualmente infraestruturas e pessoal treinado na realização de uma técnica – o teste tuberculínico. Esta deve ser aperfeiçoada e optimizada. Surgem, já com características bem definidas, outras técnicas que mantêm algumas das limitações do teste tuberculínico mas com maior especificidade. Esta técnica é mais cara, de difícil execução porque exige apoio laboratorial, não sendo, para já, disponível em todas as regiões. A maior parte dos autores concorda com a combinação das duas técnicas, tirando proveito das características operativas de cada uma.

São necessários estudos a nível nacional que permitam identificar, na nossa população, como se devem articular estes dois testes, tendo em conta a prevalência da doença, as características operacionais dos testes disponíveis e a facilidade de execução em cada local.

Bibliografia

1. Edwards P, Edwards L. Story of the tuberculin test. *Am Rev of Resp Dis* 1960; 81:1-49.
2. ATS/CDCP (American Thoracic Society/Center for Dis Control and Prevention). Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:S221-S247.
3. Bass J. The tuberculin skin test. *Am Rev Resp Dis* 1990; 142:24-28.
4. Bass J. The tuberculin test. In: Reichman L, Hershfield E (eds). *Tuberculosis: a comprehensive international approach*. Marcel Dekker, New York, 1993.
5. Berkel GM, Cobelens FG, *et al.* Tuberculin skin test: Estimation of positive and negative predictive values from routine data. *Int J Lung Dis* 9 (3):310-316.CDC.

Ainda não temos disponível um teste que consiga definir com certeza quem são os indivíduos infectados com MT que irão beneficiar de tratamento de tuberculose latente

6. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2000. Disponível em <http://www.cdc.gov/mmwr>.
7. Reichler MR, Reves R, Bur S, Thompson V, Mangura BT, Ford J, Valway SE, Onorato IM. Evaluation of investigations conducted to detect and prevent transmission of tuberculosis. JAMA 2002; 287(8): 991-995.
8. Control and prevention of tuberculosis in the United Kingdom: code of practice 2000. Joint Tuberculosis Committee of the British Thoracic Society. Thorax 2000; 55(11): 887-901.
9. Efficacy of various durations of isoniazid preventive therapy for tuberculosis: five years of follow-up in the IUAT trial. International Union Against Tuberculosis Committee on Prophylaxis. Bull World Health Organ 1982; 60(4): 555-564.
10. Woldehanna S, Volmink J. Treatment of latent tuberculosis infection in HIV infected persons. The Cochrane Database System Rev 2005 (4). Disponível em <http://www.cochrane/clsystrev>
11. Mazurek G, Villarino M, et al. Guidelines for using the quantiferon-TB Test for diagnosing latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. Recommendations and Reports. MMWR 2003; 52 (No. RR-2):15-19. Disponível em <http://www.cdc.gov/mmwr>.
12. Pai M, Riley L, et al. Interferon gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. Lancet 2004; 4:761-775.
13. Reichman L, Lambregts K, et al. Guidelines for the diagnosis of latent tuberculosis infection for the 21st century. New Jersey Medical Scholl. National tuberculosis Center 2004.
14. Barnes P. Diagnosing latent tuberculosis infection. Turning glitter to gold. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170:5-6.
15. Ewer K, Deeks J, et al. Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak. Lancet 2005; 361:1168-1173.
16. Gokhale P, Dogra J. *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 (22):2746-2747.
17. Kang YA, Lee H, et al. 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 2005; 293 (22):2785-2787.
18. Pai M, 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 (22):2746-2755.
19. Pai M. Interferon assays for tuberculosis. Is anergy the Achilles'heel? Am J Resp Crit Care Med 2005; 172:519-520.
20. Ridzon R. Optimal latent TB control methods. Int J Tuberc Lung Dis 9 (3):236.
21. Lalvani A, Millington KA. T cell-based diagnosis of childhood tuberculosis infection. Curr Opin Infect Dis 2007; 20(3): 264-271.
22. Magnusson M and Bentzon MW. Preparation of purified tuberculin RT-23. Bull WHO 1958; 19:829-43.
23. World Health Organization. The WHO standard tuberculin test. WHO/TB/Technical Guide/3.22 February 1963.
24. Davies PDO and Leitch AG. Practical problems of tuberculin test. In: Davies PDO (Ed.). Clinical Tuberculosis, Chapman & Hall, London 1944:345-9.
25. Arnadottir T, Rieder HL, Trebucq A, Waller HT. Guidelines for conducting tuberculin skin test surveys in high prevalence countries. Tubercle Lung Dis 1996;77 (Suppl): 1-20.
26. Rose DN, Schechter CB, Adler JJ. Interpretation of the tuberculin skin test. J Gen Intern Med 1995; 10(11):635-42.
27. Kapoor RK, Wakhlu I, Gupta PK, Saksena PN. Diagnostic utility of BCG test in children. J Indian Medical Ass 1982;78: 177-80.
28. Bhandari NR, Bhambal SS, Beohar V. Diagnostic value of BCG test in childhood tuberculosis. Indian Pediatrics 1984;21: 555-9.
29. Comstock GW, Livesay VT, Woolpert SF. The prognosis of a positive tuberculin reaction in childhood and adolescence. Am J Epidemiol 1974: 99(2): 131-138
30. Vynnycky E, Fine PE. Lifetime risks, incubation period, and serial interval of tuberculosis. Am J Epidemiol 2000; 152(3): 247-263
31. Selwyn PA, Hartel D, Lewis VA, Schoenbaum EE, Vermund SH, Klein RS, Walker AT, Friedland GH. A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection. N Engl J Med 1989; 320(9): 545-550.

32. Guelar A, Gatell JM, Verdejo J, Podzamczak D, Lozano L, Aznar E, Miro JM, Mallolas J, Zamora L, Gonzalez J, *et al.* A prospective study of the risk of tuberculosis among HIV-infected patients. *Aids* 1993; 7(10): 1345-1349.
33. Antonucci G, Girardi E, Raviglione MC, Ippolito G. Risk factors for tuberculosis in HIV-infected persons. A prospective cohort study. The Gruppo Italiano di Studio Tuberculosis e AIDS (GISTA). *JAMA* 1995; 274(2): 143-148.
34. Programa Nacional de Luta Contra a Tuberculose – Sistema de Vigilância (SVIG-TB). Ponto da situação epidemiológica e indicadores de desempenho. Ano 2006. Direção-Geral de Saúde. Divisão de Doenças Transmissíveis.