

Pensa-se que há mais casos de tuberculose no mundo hoje do que em qualquer outra altura através da história. As estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) para 2007 sugeriam uma prevalência de 13,7 milhões, com 9,3 milhões de novos casos e 1,8 milhões de mortes. Esta é essencialmente uma doença de pobreza, contando a Ásia e a África juntas mais de noventa por cento dos casos mundiais. Na ausência duma vacina eficaz, o controlo depende da prontidão do tratamento para reduzir a carga bacilar viável, diminuindo assim a contagiosidade de indivíduos com formas pulmonares da doença. Através dos esforços de iniciativas de saúde internacionais, como as do *Global Fund to fight HIV/AIDS, Tuberculosis and Malaria*, o tratamento da TB está agora disponível e de forma gratuita para a maioria das pessoas. Porém, o acesso ao tratamento está dependente do diagnóstico e os atrasos na deteção podem resultar na deterioração do doente e aumentar as oportunidades de

It is believed there are more cases of tuberculosis in the world today than at any previous time in history. WHO estimates for 2007 suggested a prevalence of 13.7 million, with 9.3 million incident cases and 1.8 million deaths. It is primarily a disease of poverty, with Asia and Africa between them sharing over ninety percent of the global TB burden. In the absence of an effective vaccine control depends on prompt treatment to reduce the viable bacillary load, thus reducing the infectiousness of individuals with open pulmonary forms of the disease. Through the efforts of international health initiatives such as the Global Fund to fight HIV/AIDS, Tuberculosis and Malaria treatment for TB is now widely available and free for the majority patients. However, access to treatment is dependent on diagnosis and delays in detection may result in deterioration of the patient and increased opportunity for transmission.

<sup>1</sup> Department of Infectious and Tropical Diseases,  
London School of Hygiene & Tropical Medicine  
Keppel Street, London, WC1E 7HT, UK  
e-mail: Ruth.Mcnerney@lshtm.ac.uk

transmissão. Infelizmente, o diagnóstico nem sempre é fácil, uma vez que os sintomas não são específicos, particularmente em pessoas com problemas de saúde concomitantes, como a imunossupressão relacionada com o VIH.

A maioria dos casos de TB residem em países com sistemas de saúde fracos e com poucos recursos, onde os laboratórios que realizam exames de diagnóstico são limitados em número e distribuição geográfica, e cujo acesso pode envolver longas viagens e despesa considerável. Esta situação é agravada pela insensibilidade dos testes disponíveis e pela necessidade de múltiplas consultas. Os atrasos também se devem ao comportamento dos doentes, quando estes não procuram uma consulta médica. A relutância em obter um diagnóstico reflete a natureza crónica da doença, a sua não perceção e, nalguns casos, o receio de estigmatização e exclusão social. As estimativas da OMS sugerem que, durante 2006, quatro milhões de casos de TB não foram diagnosticados. Ao contrário do que acontece com patologias como a malária ou o VIH, não há testes rápidos nem dispositivos (*POC*) suficientemente fiáveis para uso de pessoal não especializado na comunidade.

Um painel de especialistas internacionais foi convidado para um simpósio onde seria abordado o tópico dos testes rápidos para o diagnóstico da tuberculose. O evento foi organizado pelo subgrupo *POC* do grupo de trabalho *STOP TB* sobre novos diagnósticos, em colaboração com a Sociedade Europeia de Micobacteriologia. A intenção do simpósio foi aumentar a perceção da necessidade de melhorar o acesso ao diagnóstico da TB, atualizar os técnicos de diagnóstico e os investigadores sobre o desenvolvimen-

Unfortunately diagnosis is not straightforward as symptoms are not specific, particularly in those with an underlying health problem such as HIV related immunosuppression. The majority of TB cases reside in countries with weak and poorly resourced health care systems where laboratory facilities for diagnosis are limited in number and distribution. Access may involve long journeys and considerable expense, a situation compounded by the insensitivity of the available tests and need for multiple visits. Delays also arise from health seeking behaviour, where individuals do not seek medical assistance. Reluctance to seek a diagnosis reflects the chronic nature of the disease, a lack of awareness and, in some settings a fear of stigmatization and social exclusion. WHO estimates suggest that during 2006 four million cases of TB remained undiagnosed. Unlike conditions such as malaria or HIV there are no sensitive rapid tests and no reliable point-of-care (*POC*) devices that can be used by non specialist personnel within the community. To address these issues a panel of international experts were invited to speak in a symposium on the topic of point-of-care tests for the diagnosis of tuberculosis disease. The event was organized by the *POC* subgroup of the *STOP TB* working group on New Diagnostics in collaboration with the European Society of Mycobacteriology. The intention of the symposium was to increase awareness of the need for improved access to TB diagnosis, to update diagnostic practitioners and the research community on the current status of *POC* test development and to debate research needs and priorities.

to e o estado atual dos testes *POC*, e ainda debater as necessidades e prioridades da investigação. O potencial dos testes *POC* na ajuda ao controlo da TB foi discutido por Catharina Boehme (*Foundation for Innovative New Diagnostics*). O teste ideal não deveria necessitar de técnicos especializados nem de infraestruturas laboratoriais, facultaria o resultado no próprio dia da consulta, teria uma elevada especificidade e sensibilidade superior à da microscopia de esfregaço. Os indivíduos com um resultado positivo seriam imediatamente registados e referenciados para tratamento. Os testes com sensibilidade inferior à dos testes com base no laboratório teriam um papel se pudessem ser usados para reduzir os atrasos no diagnóstico. Alternativamente, um teste de avaliação com elevada sensibilidade e especificidade razoável poderia ser usado no rastreio de populações de alto risco, em que, com um resultado positivo, o doente seria referenciado para confirmação do diagnóstico antes do início do tratamento.

As atuais dificuldades no acesso ao tratamento foram ilustradas pelo testemunho de uma doente com TB natural da Zâmbia, país severamente atingido por TB e VIH/SIDA. Em 2003, Carol Nyirenda (coordenadora nacional da *Community Initiative for Tuberculosis, HIV/AIDS and Malaria*) dirigiu-se ao seu centro de saúde, queixando-se de tosse que durava havia mais de dois meses. Como a doente não conseguia produzir expectoração para análise, foi enviada para casa com suspeita de bronquite crónica. Durante os seis meses seguintes foi submetida a um total de quatro raios-X, mas não lhe foi proposto um teste VIH nesse período. Foi-lhe, finalmente, proporcionado o tratamento para a TB mais de seis meses de-

The potential of *POC* tests to aid TB control was discussed by Catharina Boehme (*Foundation for Innovative New Diagnostics*). The ideal test would not require specialist skills or a laboratory infrastructure, would yield a result within one visit, would be highly specific and have a sensitivity superior to that of smear microscopy. Anyone found positive would be immediately registered and referred for treatment. Tests that are not more sensitive than laboratory based tests would have a role if they could be used to reduce diagnostic delay. Alternatively, a screening test that had high sensitivity and a reasonable specificity could be used to screen high risk populations, where a positive result triggered referral for confirmation prior to initiation of treatment. The current difficulties in accessing treatment were illustrated through the testament of a former TB patient from Zambia, a country hard hit by both TB and HIV/AIDS. Carol Nyirenda (*National Co-ordinator, Community Initiative for Tuberculosis, HIV/AIDS and Malaria*) had presented at her local health clinic in 2003 with a cough of over two months duration. Unable to produce sputum for testing she was sent home with suspected chronic bronchitis. Over the following six months she had a total of four chest x-rays but was not offered an HIV test during that time. She was finally offered treatment for her TB more than six months after reporting symptoms. Successfully treated she now campaigns on behalf of people living with HIV and TB. She proposed that a test be developed that could be used by community volunteers, a test that could be used in rural settings

pois de ter referido os sintomas. Tratada com sucesso, Carol Nyirenda agora defende ativamente os interesses de doentes com VIH e TB, e propôs que seja desenvolvido um teste que possa ser usado por voluntários comunitários, um teste que possa também ser usado em áreas rurais onde não há eletricidade e que possa ser disponibilizado a pessoas que residem em comunidades afetadas por TB e VIH.

Os países onde a TB é endémica frequentemente não dispõem da moldura legislativa para regular dispositivos e testes de diagnóstico. Nessas regiões, os *kits*-teste podem ser comercializados sem evidência de benefício e, em algumas circunstâncias, foram acompanhadas de alegações enganadoras quanto ao desempenho. Rosanna Peeling (*London School of Hygiene & Tropical Medicine*) apresentou dados dum estudo em que o desempenho de 19 testes rápidos de diagnóstico da tuberculose disponíveis comercialmente foi avaliado usando um painel de 355 amostras séricas recolhidas em diversas regiões geográficas. Infelizmente, nenhum dos testes demonstrou um desempenho suficientemente bom para substituir os atuais testes de microscopia de esfregaço. Quando comparado com a combinação de referência-padrão (microscopia, cultura, radiografia e *follow-up* clínico), o teste com a maior sensibilidade (59,71%) tinha uma especificidade de apenas 57,72%. Os dois testes com maior especificidade (98,66%) tinham sensibilidades de 0,97 e 2,43%, respectivamente. É possível obter uma cópia deste relatório no *website* do *Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases* (TDR): <http://apps.who.int/tdr/svc/publications/tdr-research-publicationsdiagnostics-evaluation-2>.

where there is no electricity and a test that was affordable by people living in communities affected by TB and HIV.

Countries where TB is endemic frequently lack the legislative framework to regulate diagnostic test devices. In such an environment test kits may be marketed without evidence of their benefit and in some circumstances have been accompanied by misleading claims regarding their performance. Rosanna Peeling (*London School of Hygiene & Tropical Medicine*) presented data from a study where the performance of 19 commercially available rapid diagnostic tests for tuberculosis was assessed using a panel of 355 sera collected from eight geographically diverse sites. Unfortunately none of the tests were found to perform well enough to replace the current test of smear microscopy. When compared to a combined reference standard of microscopy, culture, radiography and clinical follow-up the test with the highest sensitivity of 59.71% had a specificity of just 57.72%. The two tests with the highest specificity (98.66%) had sensitivities of 0.97 and 2.43% respectively. A full copy of the report may be downloaded from the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR) website. <http://apps.who.int/tdr/svc/publications/tdr-research-publications/diagnostics-evaluation-2>. The failure of current knowledge to provide a rapid test for TB has led to recognition of the need for novel approaches. Gerd Michel (*Foundation for Innovative New Diagnostics*) described the application of genome, proteome and metabolomic based technologies to biomarker discovery. The search for suitable detection targets has expanded from traditional pro-

O insucesso do conhecimento atual em fornecer um teste rápido para TB levou ao reconhecimento da necessidade de novas abordagens. Gerd Michel (*Foundation for Innovative New Diagnostics*) descreveu técnicas baseadas na aplicação de tecnologias do conhecimento do genoma, proteoma e metabolómica para a descoberta de biomarcadores. A busca de alvos adequados foi além da química de proteínas tradicional para um âmbito mais alargado de componentes estruturais e metabólitos. Os testes baseados na deteção de lipoarabinomano (LAM), um componente lipossacárido da parede celular, ainda não conseguiram sensibilidade suficiente, mas, curiosamente, num estudo, pareceram funcionar melhor em indivíduos positivos para VIH do que nos que não estavam coinfectados.

Com o desenvolvimento de ensaios de ADN transrenal fragmentado na urina, novas estratégias estão também a ser investigadas para análises com base em ácidos nucleicos. Os testes *POC* precisam de ser rápidos e fáceis de fazer. Uma das maneiras mais simples e rápidas de identificar substâncias é pela análise do seu aroma e a identificação de compostos orgânicos voláteis (COV), e vem emergindo como um campo de interesse. A prova de conceito do diagnóstico da TB foi conseguida com o treino de ratos *pouch* africanos para cheirarem TB em amostras de expectoração. Embora não tão sensível como a microscopia de esfregaço, os animais conseguem avaliar uma amostra em apenas alguns segundos. Os utensílios para detectar baixas concentrações de COV estão a ser investigados, incluindo a adaptação de novos instrumentos desenvolvidos para uso militar e para deteção de agentes de bioterrorismo. No entanto, o optimismo precoce no que respeita à aplicação da tecno-

tein chemistry to a broader range of structural components and metabolites. Tests based on detection of lipoarabinomannan (LAM) a lipopolysaccharide component of the cell wall have not so far achieved sufficient sensitivity but intriguingly in one study appeared to function better in HIV positive individuals than those that were not co infected. New strategies are also being investigated for nucleic acid based analysis with the development of assays for fragmented transrenal DNA in urine. *POC* tests need to be both rapid and easy to perform. One of the simplest and fastest ways to identify substances is by their aroma and volatile organic compound (VOC) analysis is emerging as field of interest. Proof of concept for TB diagnosis has been provided through the training of African pouch rats to smell TB in sputum samples. Although not as sensitive as smear microscopy the animals are able to screen a sample in just a few seconds. Tools for detecting VOC at low concentrations are being investigated, including the adaptation of novel instrumentation developed for military use and bioterror agent detection. However, early optimism regarding the application of electronic nose technology has dissipated following the realisation that they lack the robustness required for a diagnostic test. A more analytical approach is now being pursued and Ruth McNerney (*London School of Hygiene & Tropical Medicine*) outlined some of the challenges facing those searching for VOC biomarkers that are predictive of TB disease. Small volatile molecules lack the distinctive character of macromolecules traditionally used to predict infection and they are more often found in nature. To complicate matters

logia do nariz electrónico dissipou-se depois da constatação de que lhe falta a robustez necessária a um teste de diagnóstico. Uma abordagem mais analítica está agora em curso e Ruth McNerney (*London School of Hygiene & Tropical Medicine*) referiu alguns dos desafios que se apresentam a quem investiga biomarcadores em COV preditivos de TB. As pequenas moléculas voláteis não têm o carácter distinto das macromoléculas tradicionalmente usadas para indicar a presença de infecção e encontram-se mais frequentemente na natureza. Para complicar, os metabólitos produzidos por *Mycobacterium tuberculosis* variam, dependendo da disponibilidade de nutrientes e outros fatores ambientais, pelo que os COV emitidos durante uma infeção podem diferir com o local da infeção e o estágio da doença. Do mesmo modo, os COV emitidos pelo hospedeiro em resposta à infeção podem sofrer alterações com a progressão da doença. A complexidade e a natureza dinâmica da emissão de COV sugere que para atingir elevada sensibilidade e especificidade será necessária uma abordagem analítica multivariada.

Há muitos passos ao longo do caminho do desenvolvimento de testes e Amy P. Wong (*X PRIZE Foundation*) discutiu a rota e identificou as potenciais barreiras ao aparecimento de um novo diagnóstico de sucesso. Quando os biomarcadores tiverem sido descobertos e testados com protótipos de dispositivos, a capacidade de fabrico será desenvolvida e estabelecer-se-á uma rota de mercado. As novas tecnologias podem requerer métodos de fabrico inovadores que assegurem a robustez dos dispositivos a preços competitivos. É necessária melhor orientação das especificações de novos testes. A incerteza quanto ao mercado para

metabolites produced by *Mycobacterium tuberculosis* vary depending on the availability of nutrients and other environmental factors, thus VOC emitted during infection may differ with the site of infection and stage of disease. Similarly, VOC emitted by the host in response to infection may alter with disease progression. The complexity and dynamic nature of VOC emission suggest that to attain high sensitivity and specificity a multivariate analytical approach will be required.

There are many steps along the path of test development and Amy P Wong (*X PRIZE Foundation*) discussed the route and identified potential barriers to the delivery of a successful new diagnostic. Once biomarkers have been discovered and tested with prototype devices the capacity to manufacture must be developed and a route to market established. New technologies may require innovative manufacturing practices to ensure delivery of robust devices at a competitive price. Improved guidance on optimum test specification is badly needed. Uncertainty regarding the market for POC TB tests also acts as a disincentive to potential investors. Innovative mechanisms for rewarding test development are required to stimulate participation and facilitate the development of devices that can be used to detect TB wherever in the world there is a need. In the words of an ex TB patient “TB infection and disease is not just about numbers, for some of us it is a reality... we sit and watch TB reversing all the efforts and gains of the HIV fight, as we die one by one from TB. It is not about numbers, there are real people at the end of the chain we have run out of time”.

testes *POC* de TB também funciona como desincentivo para potenciais investidores. São necessários mecanismos inovadores que compensem o desenvolvimento de testes, de modo a estimular a participação e a facilitar o desenvolvimento de dispositivos que possam ser usados para detectar a TB em qualquer parte do mundo. Nas palavras de um ex-doente de TB, “a infecção por TB e a própria doença não são apenas números, para alguns de nós é uma realidade... vamos assistindo à inversão, pela TB, de todos os esforços e ganhos na luta do VIH, conforme vamos morrendo, um a um, de TB. Não se trata de números, somos pessoas no extremo da cadeia e o nosso tempo está a terminar.”