



FMUC FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

CLÁUDIA SOFIA LOPES ROSA

***Adenite axilar e outras manifestações raras de infeção pela
vacina BCG***

ARTIGO CIENTÍFICO ORIGINAL

ÁREA CIENTÍFICA DE PEDIATRIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

DOUTORA ANA CRISTINA DE OLIVEIRA BRETT

PROFESSORA DOUTORA FERNANDA MARIA PEREIRA RODRIGUES

FEVEREIRO/2019

Adenite axilar e outras manifestações raras de infeção pela vacina BCG

CLÁUDIA SOFIA LOPES ROSA¹

PROF. DOUTORA FERNANDA RODRIGUES^{1,2}

DRA. ANA BRETT^{1,2}

¹ Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

² Unidade de Infeciologia e Serviço de Urgência, Hospital Pediátrico, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal

Morada Institucional do Orientador:

Hospital Pediátrico do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra,

Avenida Afonso Romão, Alto da Baleia.

3000-602, Coimbra

E-mail do Orientador:

anacbrett@gmail.com

Índice

Resumo	3
Abstract.....	5
Introdução.....	7
Material e Métodos	9
Resultados	11
Demografia.....	11
Localização e manifestações clínicas	12
Exames complementares de diagnóstico	14
Tratamento	15
Tempo de evolução	16
Casos atípicos	16
Discussão	19
Conclusão	25
Agradecimentos	26
Referências	27

Resumo

Introdução: A complicação mais frequentemente associada à vacina Bacillus Calmette-Guérin (BCG) é a adenite axilar. Podem, no entanto, ocorrer outras manifestações clínicas, colocando desafios diagnósticos. O objetivo deste estudo foi caracterizar as manifestações clínicas de reações adversas causadas por esta vacina e a sua evolução, e avaliar a presença de comorbilidades.

Material e Métodos: Estudo observacional transversal analítico, com colheita retrospectiva de dados dos processos clínicos de recém-nascidos, lactentes e crianças vacinadas com a vacina BCG e com reações adversas atribuíveis à mesma, seguidos nas consultas de Agudos e de Infeciologia do Hospital Pediátrico do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, durante um período de 9 anos (1/07/2009 a 30/06/2018).

Resultados: Foram incluídos 98 casos. A idade mediana de aparecimento das manifestações foi de 4 meses (IQR 6), tendo 34% ocorrido até aos 3 meses, inclusive, e 4% acima dos 2 anos. Apresentavam adenite 92%, predominando a axilar (73%), supraclavicular (8%) e axilar + supraclavicular (7%). Oito apresentaram manifestações clínicas atípicas: quatro osteomielites/artrites (fémur, joelho, pé e ombro), três infeções dos tecidos moles (coxa, mão e região escapular) e uma infeção disseminada. Em 53% houve supuração espontânea da adenite, com uma mediana de 3 meses (IQR 4) após o início dos sintomas. Estavam presentes sinais de alarme para imunodeficiência primária (IDP) em 10 casos, tendo sido confirmada numa criança com história familiar de morte na infância, diagnosticada com doença granulomatosa crónica. Realizou-se investigação em 62%: 49 hemogramas, 27 ecografias dos tecidos moles, 16 estudos da função imunitária. Houve confirmação microbiológica em três das localizações atípicas e outras três mostraram granulomas epitelióides na histologia. Tiveram abordagem conservadora 92%, e oito doentes fizeram tratamento específico com tuberculostáticos e/ou drenagem cirúrgica. A mediana de tempo até à resolução foi de 9 meses (IQR 11).

Discussão: A melhor abordagem nas reações adversas à vacina BCG permanece por esclarecer, apesar da maior parte dos casos ter tido boa evolução sem tratamento. O uso de tuberculostáticos deverá estar reservado a crianças com reações adversas atípicas e/ou sistémicas.

Conclusão: A adenite axilar é a manifestação mais comum de reação adversa à vacina BCG, mas podem haver localizações atípicas, mesmo na ausência de imunodeficiência primária. Embora ocorra habitualmente nos primeiros meses de vida, a infeção por BCG

pode ter apresentação tardia. A supuração espontânea é frequente. A maioria teve evolução benigna e auto-limitada, mas a evolução pode ser muito lenta.

Palavras-chave: Vacina BCG; Linfadenite; Supuração; Recém-nascido; Criança; Síndromes de Imunodeficiência; Antituberculosos.

Abstract

Introduction: The most frequent complication associated with Bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccine is axillary adenitis. However, other clinical manifestations may occur, sometimes posing diagnostic challenges. The aim of this study was to determine the clinical features, complications and comorbidities of BCG adverse reactions as well as the clinical outcome of these patients.

Material and Methods: Cross-sectional analytic study with retrospective data collection of all the clinical cases of newborns, infants and children diagnosed with a BCG adverse reaction, followed in the Infectious Diseases or Acute Clinic of Hospital Pediátrico – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra during a period of 9 years (1/07/2009 to 30/06/2018).

Results: Ninety-eight children presented with adverse reactions. Median age of first symptoms was 4 months (IQR 6), with 34% occurring in infants under 3 months and 4% in children older than 2 years old. 92% presented with adenitis, mostly axillary (73%), followed by supraclavicular (8%) or both axillary and supraclavicular (7%). Eight children presented with atypical clinical features: four osteomyelitis/arthritis (femur, foot, knee and shoulder), three soft tissue infections (thigh, hand and scapular region) and one with disseminated disease. In 53% there was spontaneous drainage, with a median time of 3 months (IQR 4) after the beginning of the first symptoms. Ten children presented with risk factors for a possible primary immunodeficiency, confirmed in one child with family history of death in childhood, diagnosed with chronic granulomatous disease. In 62% further investigation was done: 49 complete blood counts, 27 ultrasounds, 16 immunodeficiency screening. There was microbiological confirmation in three with atypical manifestations and another three had epithelioid granulomas in histology. 92% were managed conservatively and eight children received treatment with anti-tuberculous drugs and/or surgical drainage. The median time until complete resolution was 9 months (IQR 11).

Discussion: The optimal approach of BCG adverse reactions is still uncertain, although almost all children had a good outcome without treatment. The use of anti-tuberculous therapy should be kept for children with atypical or systemic manifestations.

Conclusion: Axillary adenitis is the most common adverse reaction to BCG vaccine, however there may be atypical locations, even in the absence of primary immunodeficiency. Despite usually occurring in the first months of life, BCG infection may have a late presentation. Spontaneous drainage is frequent. Most cases were self-limited with a benign outcome, but improvement may be very slow.

Keywords: BCG Vaccine; Lymphadenitis; Suppuration; Infant, Newborn; Child; Immunologic Deficiency Syndromes; Antitubercular agents.

Introdução

A vacina Bacillus Calmette-Guérin (BCG) é uma vacina viva atenuada de uma estirpe de *Mycobacterium bovis*, usada pela primeira vez em humanos em 1921.¹ Reduz o risco de tuberculose pulmonar e extrapulmonar em aproximadamente 50%, tendo eficácia de cerca de 64% contra a meningite tuberculosa e 78% contra a tuberculose disseminada.^{1,2} Também está descrito que confere proteção contra a lepra e infeções micobacterianas não tuberculosas.¹

A vacina BCG tem uma baixa incidência de reações adversas graves e é considerada segura, sendo a vacina mais antiga atualmente administrada.^{3,4} As reações adversas estão descritas em 1 a 10% dos vacinados, mas são substancialmente sub-reportadas.¹ Podem ser classificadas em localizadas, nas quais se incluem a linfadenite regional, abcesso no local da injeção e úlcera com mais de 1 cm, ou disseminadas.⁵ Podem ainda surgir em localizações pouco comuns, constituindo desafios diagnósticos. Ocorrem habitualmente nos primeiros seis meses após a vacinação, contudo podem surgir para além dos 12 meses.¹ Apesar de apresentarem um curso habitualmente benigno e auto-limitado, podem gerar grande ansiedade para os pais e, se ocorrerem complicações, podem causar morbidade significativa nos lactentes e crianças.

Esta vacina, bem como outras vacinas vivas atenuadas, está contraindicada em crianças com imunodeficiência conhecida ou submetidas a tratamentos de imunossupressão. Quando o estado de imunodepressão é desconhecido, uma infeção generalizada provocada pela vacina pode traduzir uma imunodeficiência primária (IDP) subjacente.⁶⁻⁹

A incidência da tuberculose em Portugal tem vindo a diminuir. Em 2014, atingiu o limiar de 20 casos por 100 000 habitantes, pelo que passou a ser considerado um país de baixa incidência.⁸ Segundo a Direção Geral da Saúde, esta redução na incidência, em conjunto com um sistema de vigilância eficaz e uma incidência anual de meningite tuberculosa, em crianças com menos de 5 anos de idade, inferior a um por 10.000.000 habitantes, nos últimos cinco anos, permitiu o cumprimento dos critérios de controlo recomendados pela Organização Mundial de Saúde, conduzindo à mudança do paradigma vacinal.⁸ Assim, em 2017, a vacinação pela vacina BCG passou de vacinação universal à nascença para vacinação seletiva, direcionada a crianças com fatores de risco individuais ou comunitários para tuberculose. Esta alteração na política vacinal seguiu-se a um período de falha no fornecimento da vacina por parte do Laboratório *Statens Serum Institut* da Dinamarca desde maio de 2015. A estirpe vacinal utilizada até então era a *Danish 1331*,

passando-se a utilizar a partir de 2017 a vacina do *Japan BCG Laboratory*, com a estirpe *Tokyo 172*, liofilizada.¹⁰

O objetivo deste estudo foi caracterizar as manifestações clínicas de reações adversas causadas pela vacina BCG e a sua evolução, e avaliar a presença de comorbilidades.

Material e Métodos

Foi realizado um estudo observacional transversal analítico com colheita retrospectiva de dados, que incluiu todos os recém-nascidos, lactentes e crianças que receberam a vacina BCG e que apresentaram manifestações clínicas atribuíveis à mesma, seguidos nas consultas de Agudos e de Infeciologia do Hospital Pediátrico (HP) do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), durante um período de 9 anos (de 1 de julho de 2009 a 30 de junho de 2018).

O HP-CHUC é um hospital de nível III na região centro de Portugal e a sua área de influência (primária, secundária e terciária) abrange cerca de 2 800 000 habitantes, dos quais cerca de 330 000 são crianças/adolescentes com idade inferior a 18 anos. Até 2011, a faixa etária abrangida era até aos 13 anos. Desde fevereiro desse mesmo ano, a faixa etária foi alargada até aos 18 anos.

Foram revistas individualmente todas as consultas de Agudos e de Infeciologia realizadas durante o período do estudo e a inclusão de casos clínicos baseou-se no diagnóstico final de reação adversa pela vacina BCG à data de alta, tendo sido assim excluídas outras causas eventuais de doença infecciosa. Não foram incluídos casos com reações adversas imediatas à administração da vacina.

Para cada doente foram analisadas as seguintes variáveis: sexo, idade de apresentação, localização, presença de supuração ou drenagem espontânea e se sim o intervalo temporal entre esta e o início das manifestações clínicas, classificação da doença, existência de sinais de alarme para IDP, tipo de tratamento utilizado e qual, exames complementares de diagnóstico realizados e tempo de evolução.

Quanto à classificação da doença, definiu-se como localizada quando presente nas cadeias de gânglios linfáticos axilar, supraclavicular ou cervical do lado da administração da vacina BCG, extra-regional se os gânglios linfáticos atingidos não fossem de uma das três cadeias descritas, ou disseminada quando havia envolvimento de outros órgãos para além das cadeias ganglionares. Foram considerados casos atípicos aqueles com manifestação extra-regional ou disseminada.

Nos casos atípicos, sempre que realizada, foi descrita a confirmação microbiológica e/ou anátomo-patológica da infeção pelo BCG.

Definiram-se como sinais de alarme para IDP a má progressão ponderal, presença de história familiar de mortes na infância, ocorrência de abortos na mãe e a presença de infeções recorrentes.

Relativamente ao tipo de tratamento, foi definido nos casos em que este foi realizado se foi médico ou cirúrgico. Nos casos de tratamento médico, foi avaliado se foi realizada terapêutica com tuberculostáticos, antibioticoterapia e/ou tratamento antibiótico tópico e, relativamente ao tratamento cirúrgico, se foi realizada excisão ganglionar e/ou drenagem cirúrgica.

A análise estatística foi efetuada com o programa *Statistical Package for the Social Sciences*[®] versão 22 (SPSS, Chicago, IL). O teste de normalidade utilizado foi o teste de Shapiro-Wilk ($p=0,05$). As variáveis quantitativas foram analisadas através de medidas de tendência central e de dispersão. As variáveis qualitativas foram analisadas através de frequências absolutas e relativas. Foi utilizado o teste U de Mann-Whitney para comparação de variáveis quantitativas sem distribuição normal. Foi considerado um nível de significância estatística de $p<0,05$.

Resultados

Demografia

Durante os 9 anos do estudo foram identificados 98 casos de reações adversas à vacina BCG. O maior número de casos diagnosticados foi de 18, em 2011 e em 2014. Com a exclusão da vacina do Programa Nacional de Vacinação desde junho de 2015, notou-se uma diminuição evidente no número de diagnósticos, com um caso em 2017 e outro em 2018, ambos em crianças com idade superior a 20 meses (Figura 1).

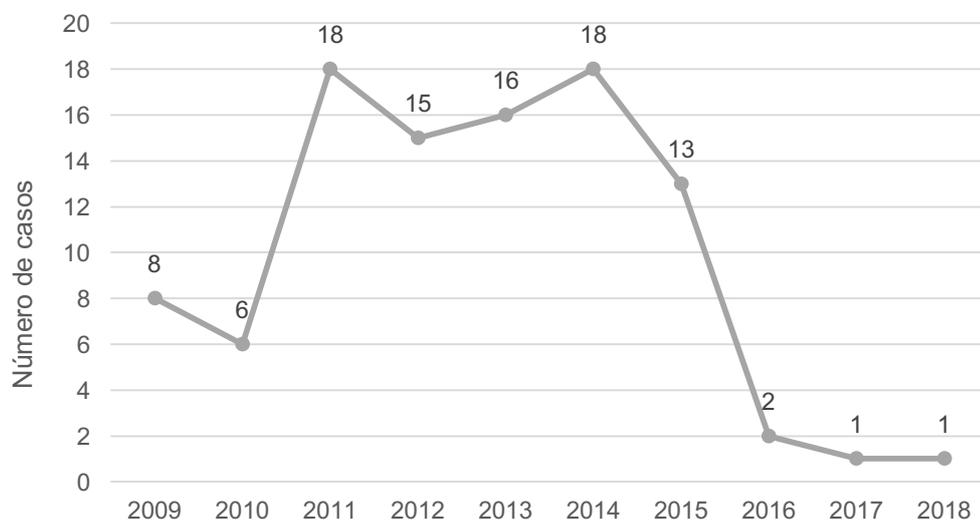


Figura 1. Distribuição anual dos casos com manifestações clínicas atribuíveis à vacina BCG de 2009-2018 (n=98).

Foram diagnosticados 56% dos casos em crianças do sexo masculino. A idade mediana de aparecimento das manifestações foi de 4 meses (IQR 6), com mínimo de 15 dias e máximo de 7 anos. A figura 2 mostra a idade de aparecimento dos primeiros sintomas.

Do total de casos, 34% ocorreram até aos três meses, inclusive, e 4% em crianças com idade superior a 2 anos.

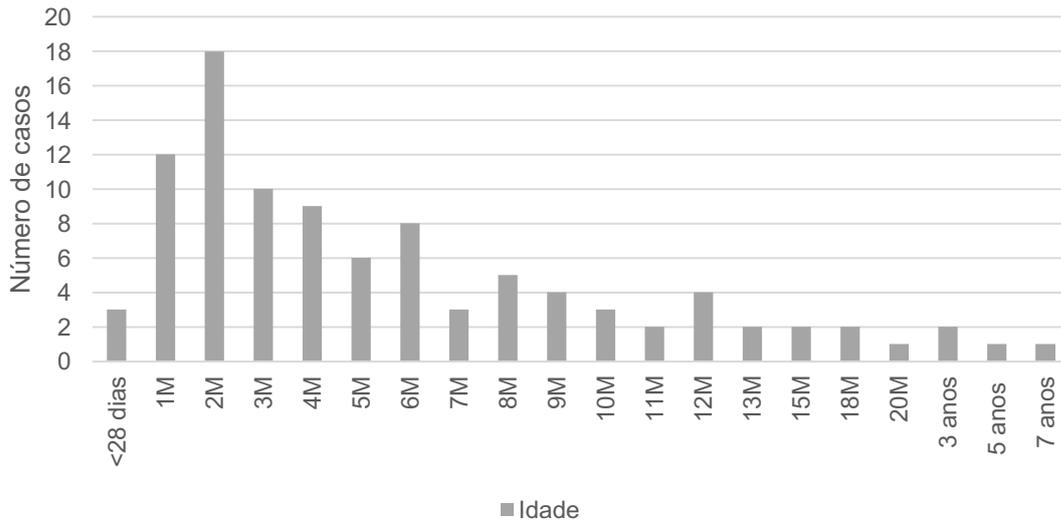


Figura 2. Idade de aparecimento dos primeiros sintomas dos casos com manifestações clínicas atribuíveis ao BCG, de 2009-2018 (n=98).

Localização e manifestações clínicas

A adenite foi a manifestação clínica mais comum, ocorrendo em 92% dos casos, predominando a axilar, presente em 72 casos (Figura 3). Em oito casos as manifestações clínicas foram consideradas raras – infecção óssea em quatro casos (com localização no fêmur, joelho, pé e ombro), infecção dos tecidos moles em três casos (com localização na coxa, mão e região escapular) e um caso de infecção disseminada.

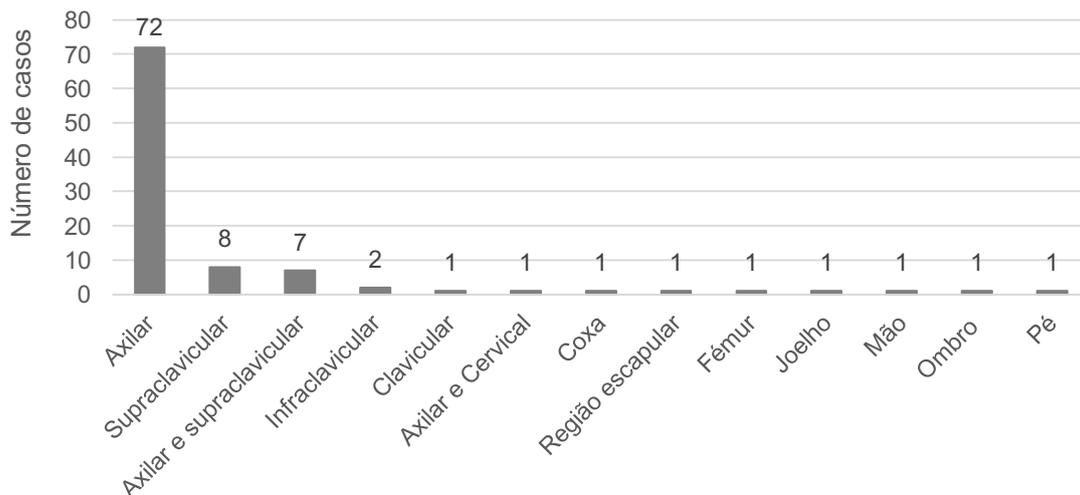


Figura 3. Localização das manifestações clínicas dos casos com diagnóstico de reação adversa pela vacina BCG, de 2009-2018 (n=98).

Os quatro casos com idade acima dos dois anos corresponderam a duas adenites axilares, uma infecção osteoarticular (fêmur) e uma infecção de tecidos moles (mão).

Em 53% dos casos houve supuração da adenite. A mediana do intervalo de tempo entre o aparecimento dos sintomas e o início da supuração foi de 3 meses (IQR 4), com um mínimo de 0 meses e um máximo de 28 meses (Figura 4).

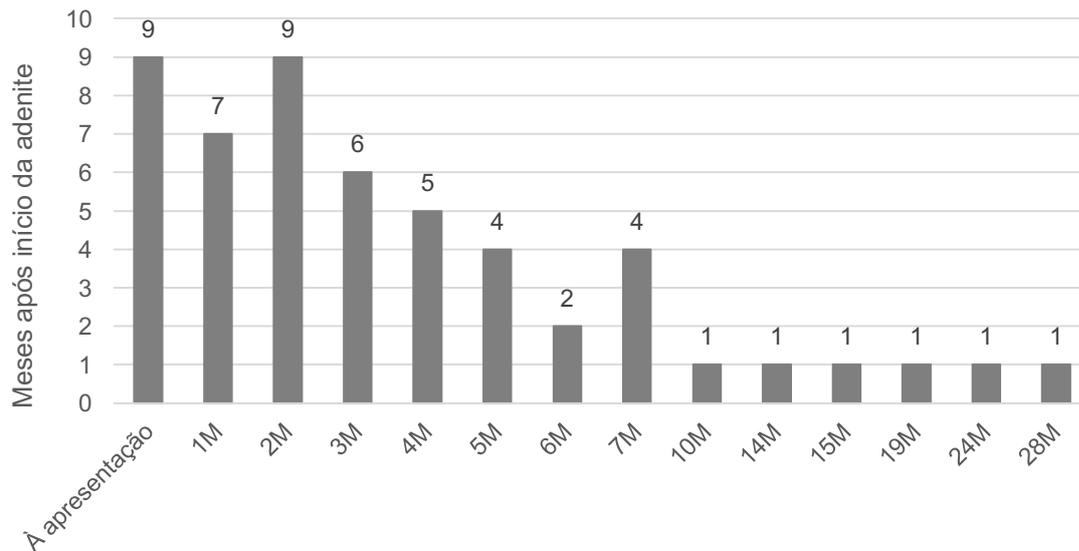


Figura 4. Intervalo de tempo em meses entre o aparecimento de adenite e supuração, em crianças com reação adversa à vacina BCG, de 2009-2018 (n=52).

Dez crianças mostraram sinais de alarme para IDP. Estes foram: três com má progressão ponderal, três com infecções recorrentes, duas com histórias de aborto materno, uma com história familiar de morte precoce e uma com má progressão ponderal e história familiar de morte precoce. Apenas esta última criança, com infecção disseminada e história familiar de morte precoce na infância, foi diagnosticada com IDP.

Exames complementares de diagnóstico

Foram realizados exames complementares de diagnóstico em 61 crianças (Figura 5).

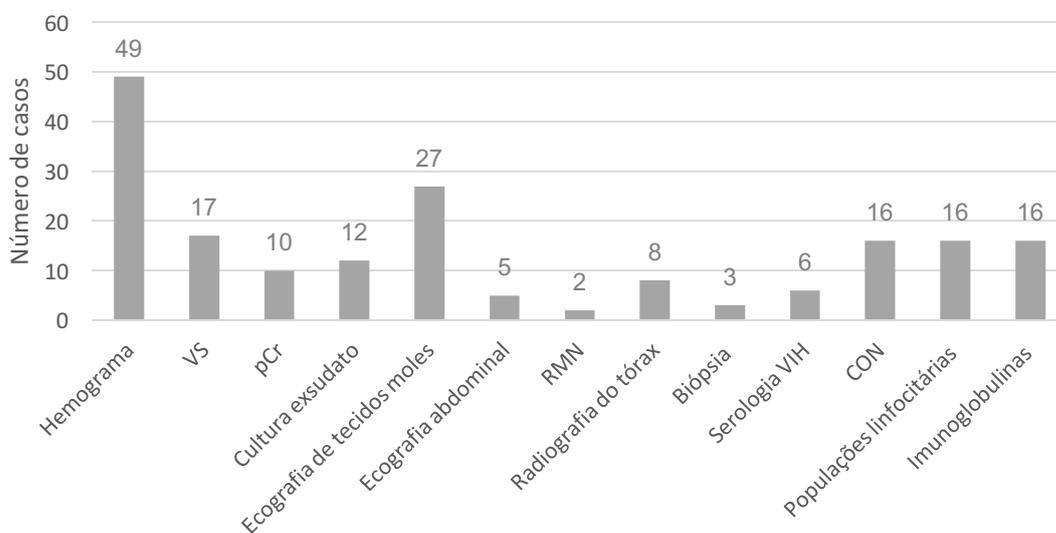


Figura 5. Exames complementares de diagnóstico realizados nas crianças com manifestações clínicas atribuíveis a reação adversa à vacina do BCG, de 2009-2018 (n=61, uma criança pode ter realizado mais do que um exame).

Legenda: VS – velocidade de sedimentação, pCr – proteína C-reativa, RMN – ressonância magnética nuclear, VIH – vírus da imunodeficiência humana, CON – capacidade oxidativa dos neutrófilos.

Relativamente aos resultados das análises sanguíneas, os 49 hemogramas realizados não mostraram alterações relevantes. A velocidade de sedimentação encontrava-se alterada em quatro crianças, com valores entre os 22 e 34 mm/hora e a proteína C-reativa foi normal sempre que requisitada.

Foi realizada cultura do exsudato em 12 crianças, mas apenas três tiveram confirmação microbiológica de doença, sendo dois positivos para *Mycobacterium bovis* por cultura e um positivo para *Mycobacterium tuberculosis* complex por *Polymerase Chain Reaction*, sem isolamento em cultura. Quatro culturas foram positivas para outros microrganismos (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Propionibacterium acnes* e *Peptostreptococcus magnus*), tendo sido assumida sobreinfecção ou contaminação.

Foram realizadas 27 ecografias de tecidos moles, que mostraram alterações compatíveis com adenite, nomeadamente presença de formações nodulares ovaladas, algumas apresentando lobulação e calcificações, chegando a atingir vários centímetros de diâmetro.

Foram realizadas cinco ecografias abdominais, tendo uma apresentado alterações, com lesões hepatoesplênicas, correspondente ao caso de infeção disseminada.

Os doentes com doença localizada ao fémur e ao joelho realizaram ressonância magnética, que mostrou lesões de centro lítico com halo esclerótico rodeadas por edema reativo nos tecidos adjacentes, bem como a presença de formações ganglionares poplíteas em ambos os casos.

Em três doentes foi efetuada biópsia: um tinha infeção localizada aos tecidos moles na região escapular, compatível com adenite necrotizante, e dois tinham infeção óssea, um dos quais osteomielite granulomatosa da epífise distal do fémur. Todos apresentavam histologia com presença de granulomas epitelióides.

Relativamente ao estudo de imunodeficiência, em seis casos foi excluída infeção por Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) e em 16 crianças foi realizado estudo de IDP. A capacidade oxidativa de neutrófilos apresentava-se alterada em uma criança com diagnóstico de Doença Granulomatosa Crónica. Outra criança, com lesão a nível do hálux, apresentou alterações transitórias nas subpopulações linfocitárias e hipogamaglobulinémia G e M que resolveram após o tratamento da infeção. Apenas esta criança fez estudo do eixo IFN-gama/IL-12 que não apresentou alterações, não tendo sido este estudo realizado nos restantes por boa evolução clínica e ausência de complicações.

Tratamento

Foi realizado tratamento específico em oito crianças: três com tuberculostáticos, duas com tuberculostáticos e drenagem cirúrgica e três apenas com drenagem cirúrgica.

Foram tratadas com tuberculostáticos as crianças com doença disseminada e com infeção na coxa, pé, joelho e fémur. O tratamento foi com a associação isoniazida em dose elevada, rifampicina e etambutol.

Foram submetidas a drenagem cirúrgica, para diagnóstico e tratamento, as crianças com infeção localizada no fémur e joelho (estas também tratadas com tuberculostáticos), bem como outras três crianças com infeção localizada à mão, escápula e axila.

A criança tratada com tuberculostáticos com lesão no pé aos 20 meses tinha sido previamente submetida a excisão ganglionar axilar aos 5 meses.

Das 52 crianças em que houve supuração, duas realizaram tratamento específico com tuberculostáticos, correspondentes às crianças com infeção disseminada e com localização no pé, aquando da adenite axilar.

Em 15 crianças com suspeita de sobreinfecção bacteriana, 11 das quais adenites supurativas, foi utilizada antibioticoterapia com flucloxacilina ou amoxicilina com ácido clavulânico. Em oito crianças usou-se ácido fusídico tópico.

Tempo de evolução

A mediana de tempo até resolução dos sintomas foi de 9 meses (IQR 11), sendo o mínimo de um mês e o máximo de 38 meses.

Os oito doentes que foram submetidos a tratamento específico (principalmente casos atípicos) tiveram uma duração mediana de manifestações clínicas de 19 meses (IQR 6), enquanto as crianças sem tratamento específico tiveram uma duração inferior (mediana de sintomas de 7 meses (IQR 14)) ($p=0,003$).

Relativamente aos casos em que houve supuração, a mediana da duração de resolução das manifestações clínicas foi significativamente superior (mediana 10 meses, IQR 11), em comparação com aqueles em que não existiu supuração (mediana 4 meses, IQR 18) ($p=0,015$).

Casos atípicos

Registaram-se oito casos atípicos, assim classificados pela sua localização: doença extra-regional ou infecção disseminada. A Tabela 1 descreve sumariamente estes casos.

A idade mediana de aparecimento da doença neste grupo foi de 12 meses (IQR 28), comparado com uma mediana de 4 meses (IQR 6) nas crianças com localização regional ($p=0,015$).

Cinco dos oito casos atípicos realizaram tratamento com tuberculostáticos.

A mediana de duração da doença foi de 18 meses (IQR 8), 11 meses acima da mediana de resolução de 7 meses (IQR 14) dos restantes casos ($p=0,005$).

Tabela 1. Resumo das características dos casos atípicos de infecção por BCG, 2009-2018 (n=8).

Idade de apresentação	Localização	Supuração	IDP	Diagnóstico	Tratamento	Tempo até resolução
12 meses	Joelho	Não	Não	Microbiologia negativa, histologia com granulomas epitelióides	Tuberculostáticos	18 meses
12 meses	Escapular	Não	Não	Microbiologia negativa e histologia com adenite necrotizante	Drenagem cirúrgica	19 meses
2 meses	Ombro	Sim, após quatro meses	Não	Clínico	Não	16 meses
20 meses	Axilar → Pé	Sim, após dois meses	Não	Confirmação microbiológica de <i>Mycobacterium bovis</i>	Excisão ganglionar axilar + Tuberculostáticos	38 meses
3 anos	Mão	Não	Não	Confirmação microbiológica por PCR de <i>Mycobacterium tuberculosis complex</i>	Drenagem cirúrgica	9 meses
3 meses	Axilar → Disseminada	Sim, após um mês	Sim	Eco tecidos moles e abdominal, CON	Tuberculostáticos	20 meses
5 anos	Fêmur	Não	Não	Microbiologia negativa, histologia com granulomas de células gigantes multinucleadas	Tuberculostáticos e drenagem cirúrgica	14 meses
6 meses	Coxa	Não	Não	Confirmação microbiológica de <i>Mycobacterium bovis</i>	Tuberculostáticos e drenagem cirúrgica	12 meses

Legenda: IDP – imunodeficiência primária; CON – capacidade oxidativa dos neutrófilos; PCR – *polymerase chain reaction*

Destacamos um doente do sexo masculino, atualmente com cinco anos, que aos três meses foi diagnosticado com adenite axilar esquerda, de rápido crescimento, que evoluiu com sinais inflamatórios e supuração (Figura 6). Não tinha outra sintomatologia associada, e a evolução estatoponderal tinha sido sempre no P5. As serologias maternas na gravidez foram negativas. Tinha como antecedentes familiares um irmão falecido 20 anos antes, no primeiro ano de vida, com provável tuberculose disseminada. Aos sete meses foi encaminhado para o HP-CHUC, onde foi realizada ecografia abdominal que mostrou abscessos hepatoesplênicos (Figura 7), tendo sido assumido o diagnóstico de infecção disseminada pelo BCG. O estudo da capacidade oxidativa dos neutrófilos mostrou ausência de *burst* oxidativo. Foi identificada ausência de expressão da proteína gp91-phox, confirmando o diagnóstico de Doença Granulomatosa Crônica (DGC) com mutação no gene CYBB. Fez terapêutica oral prolongada (três anos e quatro meses) com isoniazida, rifampicina e etambutol, com melhoria progressiva das lesões axilares (Figura 6) e intra-abdominais. Recentemente realizou transplante de células hematopoiéticas pluripotenciais.



Figura 6. Evolução da adenite axilar da criança com diagnóstico de doença disseminada por BCG.
(Fotografia tirada com a permissão da mãe.)

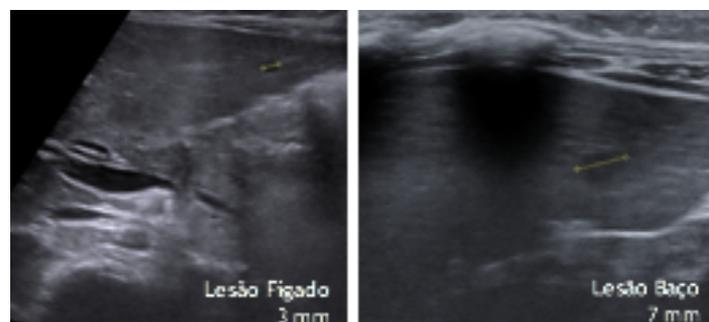


Figura 7. Abscessos hepatoesplênicos em criança com diagnóstico de doença disseminada por BCG.

Discussão

Nesta análise retrospectiva foram avaliadas crianças com manifestações clínicas atribuídas ao BCG durante um período de 9 anos, englobando um total de 98 crianças. São poucos os estudos publicados nesta área, não existindo nenhum português e sendo escassos na Europa, pois a maior parte dos países europeus são países de baixa incidência de tuberculose, vacinando com a vacina BCG apenas os grupos de risco desde há vários anos. Como tal, a comparação com países com características semelhantes ao nosso apresenta limitações. Incluímos estudos do Reino Unido, Dinamarca, Finlândia, Irlanda mas também de países como a Austrália, Arábia Saudita, Brasil, Canadá, China, Irão, Malásia e Paquistão.

A reação típica esperada após a administração da vacina é a presença de uma área avermelhada e endurecida no local de inoculação, que pode ulcerar e posteriormente formar uma crosta que habitualmente cai após seis semanas, deixando uma pequena cicatriz.¹ As reações típicas esperadas e as reações adversas estão bem descritas mas os estudos reportam taxas de incidência muito diferentes.¹¹ Estas diferenças são atribuíveis a diversos fatores, entre eles a dose e a estirpe da vacina utilizada, a idade da criança e o seu estado imunitário, bem como a técnica da administração da vacina.^{1,6,12-14} De referir que o risco de reações adversas é maior no período neonatal pela debilidade da imunidade Th1 dos recém-nascidos.¹ Dependendo da imunogenicidade gerada em modelos animais, as estirpes foram classificadas como “fortes”, como é o caso da *Danish* 1331 ou “fracas”, como a *Tokyo* 172. As primeiras estão associadas a uma maior incidência de reações adversas,^{1,7} o que é corroborado por vários estudos, que relatam um aumento da incidência destas aquando da troca da estirpe da vacina *Copenhagen* 1007 para a *Danish* 1331 no Reino Unido, Finlândia e Irlanda.^{11,13,15,16} Na Finlândia descrevem mesmo um aumento na incidência da linfadenite, de oito para 285 por 100 000 vacinados, nos meses imediatamente a seguir à troca.¹⁶ No nosso estudo, todas as crianças foram vacinadas com a estirpe *Danish* 131, o que pode justificar o número de reações adversas diagnosticadas.

As reações adversas ocorrem habitualmente nos primeiros seis meses após a vacinação,^{1,3} o que se verificou neste estudo com 67% dos casos a ocorrerem até aos seis meses, inclusive, e 81% antes dos 12 meses. No entanto, podem ocorrer após o primeiro ano de vida,^{1,15} sendo que nesta amostra 4% ocorreram após os dois anos. Uma casuística do Paquistão relata casos de linfadenite cinco anos após a administração da vacina.¹⁴ A idade mediana de aparecimento das manifestações clínicas aos quatro meses foi diferente da relatada noutros estudos. Foi inferior à relatada numa casuística de Londres,¹ que

descreve uma idade mediana de seis meses, embora no Reino Unido a vacina não seja dada logo ao nascimento (idade mediana de vacinação de 6 semanas). Contudo, foi superior à relatada em casuísticas da Dinamarca e São Paulo, com idade mediana de aparecimento das manifestações clínicas aos 2,5 meses.^{5,11} Esta diferença talvez se deva ao número discrepante das amostras de cada estudo (Dinamarca n=23, São Paulo n=127), à estirpe da vacina administrada (*Danish 1331* na Dinamarca; *Moreau Rio de Janeiro* em São Paulo) e ao aparecimento de mais casos de doença extra-regional e mais grave no nosso estudo que, como se mostrou, ocorreu em idades mais tardias (p=0,015). Relativamente ao ligeiro predomínio do sexo masculino, este é consistente com a maioria dos estudos.^{1,3,5,17,18}

A linfadenite do BCG, também chamada de BCGite, definida como o aparecimento de gânglios linfáticos regionais (axilares e raramente supraclaviculares ou cervicais) aumentados após a administração da vacina, é a complicação mais comum.³ Muito mais raras são a ocorrência de doença à distância do local da inoculação – infeção extra-regional – ou de doença disseminada com envolvimento sistémico – infeção disseminada.¹⁹ A infeção regional ou extra-regional pode ser considerada uma resposta exagerada a vacinas mais imunogénicas, podendo ocorrer em indivíduos previamente saudáveis e em crianças com défice imunitário.^{5,14} Por outro lado, a doença disseminada habitualmente afeta crianças com infeção por VIH ou com IDP.⁵ A incidência das reações adversas locais moderadas é de menos de um em cada 1000 vacinados, enquanto que eventos graves como a doença disseminada ocorrem em menos de um por um milhão de vacinados.²⁰

Neste estudo, a maior parte das reações foram locais (92%), sobretudo linfadenites axilares (74%), e 8% foram reações extra-regionais ou disseminadas, o que está de acordo com a literatura no que concerne as reações locais,^{1,5,21} não descrevendo a maior parte dos estudos qualquer tipo de reação extra-regional ou disseminada. O predomínio de reação local é expectável, pois a cadeia axilar é a mais próxima do local de administração. A frequência de doença extra-regional ou disseminada foi de 2% numa casuística de Londres,¹ com o relato de um caso em cinco anos, num total de 60 crianças. Outros casos atípicos referidos noutros estudos, e não observados no nosso, contemplam lesões tipo verruga no local da injeção, reativações da cicatriz, lesões dermatológicas e fenómenos vasomotores.⁵ No entanto, estas reações poderão estar subnotificadas no nosso estudo por frequentemente não implicarem seguimento em consulta.

Existem duas formas de linfadenite: a simples ou não supurativa, que na maioria dos casos resolve espontaneamente em poucas semanas, e a linfadenite supurativa, caracterizada pelo aparecimento de flutuação com eritema e edema da pele subjacente.^{3,21} A supuração pode desenvolver-se em 30 a 80% dos casos de adenite.³ Neste estudo, houve

supuração em 53%, à semelhança de outros estudos,^{1,3,5} sendo que a sua mediana de resolução foi de 10 meses, com ou sem tratamento, valor mais elevado do que o descrito na literatura (6,6 e 8,7 meses).^{5,11}

Por ser uma vacina viva existe um risco aumentado de circulação de micobactérias na ausência de uma resposta imune apropriada após a vacinação.⁴ Daí que localizações atípicas e complicações graves como osteomielite e infecção disseminada, apesar de raras, devam levar a procurar a existência de IDP.²² Todas as crianças com doença disseminada referidas noutros estudos foram posteriormente diagnosticadas com IDP, tendo acontecido o mesmo no único caso de doença disseminada registado neste estudo.^{6,23} Apesar de ser contraindicada nestes casos, como a vacina é dada logo ao nascimento, não estão nessa altura presentes sinais ou sintomas que evoquem uma possível IDP, não havendo também qualquer tipo de teste de rastreio. Como tal, deve ser sempre feita uma história familiar cuidada antes da administração da vacina, bem como o adiamento da mesma quando se suspeita de uma IDP, pois os lactentes com imunodeficiência severa combinada são muito suscetíveis a morte precoce por infeções sistémicas causadas por vacinas vivas atenuadas.²² Neste estudo, 10 crianças apresentavam sinais de alarme para IDP, mas apenas uma, com doença disseminada, teve esse diagnóstico. A doença disseminada ocorre normalmente nos primeiros seis meses após a vacinação,⁶ o que se verificou neste caso que teve os primeiros sintomas aos três meses, sendo diagnosticado com DGC. Nas doenças disseminadas, os órgãos mais frequentemente afetados são a pele e o pulmão e menos frequente o fígado, o baço e os ossos.⁹ Outras IDP que podem estar associadas a infecção pelo BCG são a imunodeficiência combinada severa, a síndrome de DiGeorge, deficiência parcial ou completa do recetor do interferão-gama ou um grupo de condições denominadas suscetibilidade mendeliana à doença micobacteriana.^{1,7,24}

De acordo com várias casuísticas, exames complementares como radiografia do tórax, hemograma ou cultura bacteriológica de rotina são pouco úteis, não sendo mesmo necessários nos casos de complicações locais pois não contribuem para o diagnóstico.^{2,3,19} Apenas as crianças com infecção disseminada, localização atípica e/ou com sinais de alarme para IDP devem ser submetidas a investigação.² Neste estudo foram realizados exames complementares de diagnóstico em 62% dos doentes, representando um número bastante elevado, e, dado a sua normalidade, muito provavelmente sem indicação. No entanto, a exuberância da lesão, mesmo que axilar, pode condicionar a realização de exames complementares e, ainda, este estudo inclui oito casos com manifestações atípicas, o que implica, até se poder concluir pelo diagnóstico de infecção por BCG, a realização de exames para investigação da lesão.

Os exames diretos e cultura dos aspirados ganglionares podem ser um meio auxiliar de diagnóstico importante nos casos clínicos que suscitam mais dúvidas.¹⁹ Das 12 culturas realizadas, apenas em três foi confirmada a presença de micobactéria, valor muito inferior aos 53% com isolamento do BCG em culturas apresentado noutro estudo.¹ A ecografia de tecidos moles pode ser útil nos casos de nódulos com flutuação para identificação da presença de pús ou liquefação central, o que permite antecipar uma eventual supuração.

O melhor tratamento para as reações adversas à vacina BCG permanece por esclarecer^{4,5} e não há evidência de que intervenções médicas, incluindo o uso de agentes tuberculostáticos, acelere a sua resolução.¹³ As estratégias de tratamento variam da simples observação (*watchful waiting*), aspiração por agulha fina, drenagem cirúrgica ou excisão ganglionar, ao uso de tuberculostáticos ou de uma combinação destas.⁴ A eficácia dos tuberculostáticos no tratamento das complicações locais permanece pouco clara, estando limitada pela sua baixa penetração no abscesso e pela resistência inerente do *M. bovis* à pirazinamida.^{1,2} Por sua vez, durante o tratamento pode surgir resistência à rifampicina, o que pode comprometer a sua eficácia,^{1,13} e existe sempre a possibilidade de reações adversas aos tuberculostáticos. O conhecimento do perfil de resistências aos diferentes tuberculostáticos das diferentes estirpes vacinais é bastante limitado, no entanto deverá ser tido em conta no momento de escolha do tratamento empírico.²⁵ Um estudo²⁵ demonstrou a resistência da estirpe *Danish* 1331 às doses habituais de isoniazida. Sendo esta um excelente tuberculostático, e devendo-se evitar a monoterapia no tratamento de infeção por micobactérias, sugerem a sua utilização em doses mais elevadas (>10 mg/kg), para que exceda a concentração inibitória mínima de 0,4mg/ml,² o que foi feito no nosso estudo.

A melhor abordagem nos casos menos graves e exuberantes de linfadenite, por exemplo em adenites sem flutuação, é a atitude expectante, tendo em conta que, segundo alguns estudos, o uso de tratamento médico não reduziu a ocorrência de supuração.^{1,2,26-28} Há ainda um estudo que afirma que o tratamento da infeção com tuberculostáticos não é efetivo quando os gânglios linfáticos apresentam um tamanho superior a 3 cm ou quando já se desenvolveu flutuação e inflamação da pele subjacente.¹⁴

Em 92% houve resolução espontânea, sem qualquer tipo de tratamento, valor superior ao relatado noutras casuísticas.^{1,21} Assim, apenas 8% realizaram tratamento específico, cinco com tuberculostáticos, todos com doença extra-regional. Os casos com localização típica tiveram boa evolução sem qualquer tipo de tratamento. Esta percentagem é significativamente inferior àquela descrita noutros países. Num estudo da Arábia Saudita, 65% dos casos foram tratados com tuberculostáticos.¹⁷ Noutro estudo, brasileiro, foi usada isoniazida em 85,7% dos doentes com adenite local, sendo descrita resolução completa

num período mediano de 5,2 meses.⁵ Num estudo realizado em Londres, 54% das crianças com linfadenite realizaram tratamento, uma percentagem muito díspar da nossa.¹

Neste estudo, em 96% dos casos com supuração não houve qualquer tipo de tratamento, muito diferente do descrito noutro estudo,¹ em que 85% das supurações foram tratadas com tuberculostáticos, aspiração ou drenagem cirúrgica. Isto ilustra que apesar da adenite supurativa poder ser prolongada, ela é benigna e responde bem ao tratamento conservador, como já tinha sido referido noutro estudo que avaliou as reações adversas à vacina *Danish 1331* e que não tratou nenhuma das crianças, havendo em todas elas resolução sem sequelas, a não ser a formação de uma cicatriz.¹¹ No Brasil existe um protocolo que propõe o uso de isoniazida em todas as crianças com linfadenite supurativa até à sua completa resolução, mas não preconiza tratamento específico em casos de adenite local não supurativa.⁵ O nosso estudo mostrou que as crianças que desenvolveram supuração demoraram mais tempo até à cura ($p=0,015$), mas resolvendo sem sequelas.

Nos doentes com imunidade comprometida, alguns estudos afirmam que o tratamento com tuberculostáticos como a isoniazida e a rifampicina são efetivos e que, inclusivé, podem diminuir a mortalidade pelas complicações associadas ao BCG nas crianças com diagnósticos de IDP.^{7,9} É de extrema importância considerar-se, por isso, o início precoce da terapia tuberculostática, no momento em que se diagnostica uma IDP.

Dado a boa evolução das crianças incluídas no nosso estudo, poderemos dizer que o uso de tuberculostáticos poderá ser reservado às crianças que desenvolvem reações adversas raras ou sistémicas, uma vez que foi nesses casos que se verificou uma maior mediana de tempo de resolução de sintomas em comparação com todas as não tratadas.

O uso de antibióticos em 15 casos poder-se-á justificar por apresentarem aspeto compatível com sobreinfeção da adenite, possível nos casos com supuração, estando nesses casos recomendado o tratamento com antibiótico.²⁸

Relativamente ao tratamento cirúrgico, cinco crianças foram submetidas a drenagem, quatro das quais com localização atípica da infeção, e uma a excisão. A abordagem pouco frequente destas lesões deve-se ao facto do seu potencial para fistulizar ou a dificuldade na cicatrização da ferida cirúrgica quando é realizada drenagem.²⁹ Vários autores consideram a excisão ganglionar completa mais vantajosa, com boas taxas de cura e baixa percentagem de recorrência, ao invés da drenagem que resulta muitas vezes em falha do tratamento, recorrência, formação de seio de drenagem com descarga prolongada e formação de uma cicatriz disforme.^{30,31} No entanto, a excisão ganglionar requer anestesia geral, o que lhe confere um risco maior, ficando reservada para nódulos tensos e com flutuação ou que

tenham sofrido supuração espontânea com formação de seio de drenagem, prevenindo sequelas como a persistência do seio de drenagem.^{2,13,14}

Embora não utilizada no nosso estudo, a aspiração por agulha fina, descrita como mais vantajosa do que a drenagem e sem as suas complicações, é um tratamento muito aceite na linfadenite supurativa, não só a nível diagnóstico mas também terapêutico, com benefício comprovado na redução da ocorrência de perfurações com formação de seios de drenagem e, por conseguinte, do tempo de doença e da maior brevidade da cicatrização, e também pelo melhor resultado cosmético em comparação com a incisão e drenagem cirúrgicas.^{2,27,32} Por ser uma técnica de fácil execução e bem tolerada pelas crianças e pelos pais, é o tratamento de eleição em reações com supuração noutros países.^{1,2} No entanto, é uma técnica falível, especialmente no caso de existirem múltiplos nódulos supurativos ou multiloculados.³³

Este estudo apresenta várias limitações. Em primeiro lugar, foi um estudo baseado num só hospital e não foi possível calcular a taxa aproximada das complicações por número de vacinados uma vez que grande parte das crianças com complicações menos exuberantes são seguidas nas unidades de cuidados primários. Em segundo lugar, ao ser um estudo retrospectivo, a abordagem de cada caso variou consoante o clínico envolvido, não sendo por isso possível comparar o sucesso de cada método de tratamento. O facto de em 2017 se ter mudado da estirpe *Danish* 1331 para a estirpe *Tokyo* 172, menos imunogénica,^{1,13} pode ter contribuído para uma diminuição nas taxas de reações adversas à vacina, no entanto, não é possível fazer comparação visto que foi nesse mesmo ano que a vacinação passou a ser para grupos de risco, de número limitado.

São necessários mais estudos nesta área para comparar o curso natural das reações adversas à vacina BCG e os benefícios das diferentes modalidades de tratamento.⁵

Conclusão

As reações adversas à vacina BCG, embora ocorram habitualmente nos primeiros meses de vida, podem surgir mais tardiamente. Podem apresentar-se em localizações atípicas, mesmo na ausência de imunodeficiência, contudo as manifestações graves, como a doença disseminada, são raras e devem fazer pensar em IDP. A supuração espontânea da adenite é frequente. A grande maioria resolve sem tratamento mas a evolução pode ser muito lenta e durar meses. A educação dos pais é essencial, para que estas reações adversas possam ser identificadas e as opções terapêuticas compreendidas, nomeadamente a evolução natural expectável desta condição.

Agradecimentos

Para a concretização deste trabalho, foram essenciais a entrega, o empenho e a motivação pessoal e todas as pessoas que para tal contribuíram.

À Dra. Ana Brett, minha orientadora, agradeço por toda a confiança que em mim depositou, pela constante disponibilidade e paciência e total dedicação na realização deste trabalho. Além de todo o rigor e apoio, transmitiu-me ensinamentos e valores para levar para a vida.

À minha coorientadora, Professora Doutora Fernanda Rodrigues, pela partilha dos seus conhecimentos e pertinência das suas sugestões.

À Catarina pela sua prontidão na resposta às minhas dúvidas e pedidos e pela colaboração imprescindível na recolha e organização dos dados.

À minha mãe e irmão pelo carinho e apoio incondicional e por serem o meu pilar todos os dias.

Ao Ricardo por todo o apoio, incentivo e paciência e por acreditar sempre nas minhas capacidades.

Referências

1. Venkataraman A, Yusuff M, Liebeschuetz S, Riddell A, Prendergast AJ. Management and outcome of Bacille Calmette-Guérin vaccine adverse reactions. *Vaccine*. 2015;33:5470-4.
2. Riordan A, Cole T, Broomfield C. Fifteen-minute consultation: Bacillus Calmette-Guérin abscess and lymphadenitis. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2014;99:87-9.
3. Goraya JS, Viridi VS. Bacille Calmette-Guérin lymphadenitis. *Postgrad Med J*. 2002;78:327-9.
4. Dara M, Acosta CD, Rusovich V, Zellweger JP, Centis R, Migliori GB. Bacille Calmette-Guérin vaccination: the current situation in Europe. *Eur Respir J*. 2014;43:24-35.
5. Moreira TN, Moraes-Pinto MI, Costa-Carvalho BT, Grumach AS, Weckx LY. Clinical management of localized BCG adverse events in children. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2016;58:84.
6. Deeks SL, Clark M, Scheifele DW, Law BJ, Dawar M, Ahmadipour N, et al. Serious adverse events associated with bacille Calmette-Guérin vaccine in Canada. *Pediatr Infect Dis J*. 2005;24:538-41.
7. Govindarajan KK, Chai FY. BCG Adenitis-Need for Increased Awareness. *Malays J Med Sci*. 2011;18:66-9.
8. Direção-Geral da Saúde. Estratégia de vacinação contra a tuberculose com a vacina BCG. Norma nº 006/2016 de 29/06/2016.
9. Marciano BE, Huang CY, Joshi G, Rezaei N, Carvalho BC, Allwood Z, et al. BCG vaccination in patients with severe combined immunodeficiency: complications, risks, and vaccination policies. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133:1134-41.
10. Direção-Geral da Saúde. Vacinação de crianças (<6 anos de idade) pertencentes a grupos de risco para a tuberculose com a vacina BCG. Norma nº 001/2016 de 12/02/2016.
11. Nissen TN, Birk NM, Kjærgaard J, Thøstesen LM, Pihl GT, Hoffmann T, et al. Adverse reactions to the Bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccine in new-born infants-an evaluation of the Danish strain 1331 SSI in a randomized clinical trial. *Vaccine*. 2016;34:2477-82.

12. Turnbull FM, McIntyre PB, Achat HM, Wang H, Stapledon R, Gold M, et al. National study of adverse reactions after vaccination with bacille Calmette-Guérin. *Clin Infect Dis*. 2002;34:447-53.
13. Bolger T, O'Connell M, Menon A, Butler K. Complications associated with the bacille Calmette-Guérin vaccination in Ireland. *Arch Dis Child*. 2006;91:594-7.
14. Nazir Z, Qazi SH. Bacillus Calmette-Guerin (BCG) lymphadenitis-changing trends and management. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2005;17:16-8.
15. Teo SS, Smeulders N, Shingadia DV. BCG vaccine-associated suppurative lymphadenitis. *Vaccine*. 2005;23:2676-9.
16. Salo EP. BCG in Finland: changing from a universal to a selected programme. *Euro Surveill*. 2006;11:18-20.
17. Bukhari E, Alzahrani M, Alsubaie S, Arabiaah A, Alzamil F. Bacillus Calmette-Guerin lymphadenitis: a 6-year experience in two Saudi hospitals. *Indian J Pathol Microbiol*. 2012;55:202-5.
18. Hendry AJ, Dey A, Beard FH, Khandaker G, Hill R, Macartney KK. Adverse events following immunisation with BCG vaccination: baseline data to inform monitoring in Australia following introduction of new unregistered BCG vaccine. *Commun Dis Intell Q Rep*. 2016;40:E470-E474.
19. Constant C, Figueiredo A, Brito MJ. Adenite do Bacilo Calmette-Guérin: Protocolo Diagnóstico e Terapêutico. *Acta Med Port*. 2011;24:263-8.
20. Apte AV, Shruti S, Dipankar S. BCG Adenitis: action or inaction? *J Evol Med Dent Sci*. 2014; 3:3446-54.
21. Behjati M, Ayatollaji J. Post-BCG lymphadenitis in vaccinated infants in Yazd, Iran. *Iran J Pediatr*. 2008;18:351-6.
22. Roxo-Junior P, Silva J, Andrea M, Oliveira L, Ramalho F, Bezerra T, et al. A family history of serious complications due to BCG vaccination is a tool for the early diagnosis of severe primary immunodeficiency. *Ital J Pediatr*. 2013;39:54.
23. Rezai MS, Khotaei G, Mamishi S, Kheirkhah M, Parvaneh N. Disseminated Bacillus Calmette-Guérin infection after BCG vaccination. *J Trop Pediatr*. 2008;54:413-6.
24. World Health Organization. Observed rate of vaccine reactions: Bacille Calmette-Guérin (BCG) Vaccine. Geneva: WHO; April, 2012.

25. Ritz N, Tebruegge M, Connell TG, Sievers A, Robins-Browne R, Curtis N. Susceptibility of *Mycobacterium bovis* BCG vaccine strains to antituberculous antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:316-8.
26. Goraya JS, Viridi VS. Treatment of Calmette-Guérin bacillus adenitis: a metaanalysis. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20:632-4.
27. Cuello-García CA, Pérez-Gaxiola G, Jiménez Gutiérrez C. Treating BCG-induced disease in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;1:CD008300.
28. Elsidig N, Alshahrani D, Alshehri M, Alzahrani M, Alhajjar S, Aljummah S, et al. Bacillus Calmette–Guérin vaccine related lymphadenitis in children: management guidelines endorsed by the Saudi Pediatric Infectious Diseases Society (SPIDS). *Int J Pediatr Adolesc Med*. 2015;2:89-95.
29. Pal S, Chakarabarti S, Phukan JP, Biswas S, Sinha A, Sinha R. Role of needle aspiration in diagnosis and management of suppurative bacille calmette-guerin adenitis: an institutional study of 30 cases. *J Lab Physicians*. 2015;7:21-5.
30. Mahadevan M, Neeff M, Van Der Meer G, Baguley C, Wong WK, Gruber M. Non-tuberculous mycobacterial head and neck infections in children: analysis of results and complications for various treatment modalities. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2016;82:102-6.
31. Spinelli G, Mannelli G, Arcuri F, Venturini E, Chiappini E, Galli L. Surgical treatment for chronic cervical lymphadenitis in children. Experience from a tertiary care paediatric centre on non-tuberculous mycobacterial infections. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2018;108:137-42.
32. Chan WM, Kwan YW, Leung CW. Management of Bacillus Calmette-Guérin Lymphadenitis. *HK J Paediatr*. 2011;16:85-94.
33. Naumeri F, Khan MS, Rauf A, Imran S, Tahir M. Role of needle aspiration and surgical excision in management of suppurative Bacillus Calmette Guerin lymphadenitis. *J Pak Med Assoc*. 2018;68:1120-3.