



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL
E SAÚDE PÚBLICA**

Daniela Graner Schuwartz Tannus Silva

Tuberculose latente em pacientes com artrite reumatoide.

**Avaliação da resposta celular e novas estratégias
diagnósticas.**

**Goiânia
2010**

Daniela Graner Schuwartz Tannus Silva

**Tuberculose latente em pacientes com artrite reumatoide.
Avaliação da resposta celular e novas estratégias
diagnósticas.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical na área de concentração de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientador:

Prof. Marcelo Fouad Rabahi

Co-orientadora:

Prof^a Ana Paula Junqueira-Kipnis

Este estudo foi realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo nº 475603/2007-9.

**Goiânia
2010**

**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da
Universidade Federal de Goiás**

BANCA EXAMINADORA

Aluno (a): Daniela Graner Schuwartz Tannus Silva

Orientador: Prof. Marcelo Fouad Rabahi

Co-orientadora: Prof.^a Ana Paula Junqueira-Kipnis

Membros:

1. Prof. Marcelo Fouad Rabahi

2. Prof. Nilzio Antônio da Silva

3. Prof. João Alves de Araújo Filho

Data: 09/12/2010

Dedicatória

Aos meus queridos filhos Diogo e Lívia, tesouros maiores emprestados por Deus, e que em cada sorriso me mostram quão maravilhosa nossa vida é.

Agradecimentos

A Deus pelo sopro de vida e pela chance de aqui estar.

À minha mãe, Laura, grande amiga e exemplo de mulher capaz, sempre pronta a me estender a mão, e ao meu pai, Ovídio, que apesar de há muito não estar entre nós foi quem me ensinou ainda muito cedo a importância do “saber pensar”.

Ao Mário, amor e amigo de todas as horas, companheiro mais leal que eu poderia ter.

Ao meu orientador Marcelo Fouad Rabahi pelos ensinamentos e pela confiança em mim depositada e à professora Ana Paula Junqueira-Kipnis que como co-orientadora, muito me ajudou nesse caminho.

A todos do Serviço de Pneumologia do Hospital das Clínicas: Maria Auxiliadora, Maria Conceição, Maria Rosedália, Evandro e residentes, que compreenderam minhas eventuais ausências sempre me ajudando e apoiando.

A toda equipe do Laboratório de Imunopatologia das Doenças Infecciosas da UFG e em especial à Bruna Daniella de Souza Silva, pelo esforço na realização dos exames laboratoriais e pelo auxílio em tantos momentos durante o estudo.

Ao professor Nilzio Antonio da Silva, chefe do Serviço de Reumatologia, pela pronta disposição em nos receber nos ambulatórios de Reumatologia e preciosas sugestões ao longo da pesquisa; aos professores, médicos e residentes do Serviço de Reumatologia pelo apoio e auxílio na seleção dos pacientes.

Ao Dr. Pedro Paulo Teixeira e Silva Torres e Dr. Pedro José de Santana Junior pelo empenho na realização e análise das tomografias.

Agradeço também aos meus irmãos, meu sogro e sogra, demais familiares e amigos que sempre me incentivaram e apoiaram.

A todos, agradeço de coração, essa vitória é um pouquinho de cada um de vocês.

ABREVIATURAS

AR	Artrite reumatoide
BAAR	Bacilo álcool-ácido resistente
BCG	Bacilo Calmette-Guérin
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CFP	<i>Culture filtrate proteins</i>
DOT	<i>Directly observed therapy</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ELISPOT	<i>Enzyme-linked immunospot assay</i>
ESAT-6	<i>Early secretory antigenic 6</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i>
IFN γ	Interferon-gamma
IGRA	<i>Interferon- gamma release assay</i>
IL	Interleucina
kDA	Kilodáton
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i>
PBMC	<i>Peripheral blood mononuclear cell</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PPD	<i>Purified protein derivative</i>
PT	Prova tuberculínica
QTF-G	QuantiFERON-TB-GOLD
RD1	Região de diferença 1
TB	Tuberculose
TBIL	Tuberculose latente

TBMR	Tuberculose multi-resistente
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor-alpha</i>
UT	Unidade tuberculínica

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO / REVISÃO DA LITERATURA	11
1.1. <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	12
1.2. Antígenos do <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	13
1.3. Patogenia e resposta imune geral na tuberculose	14
1.4. Diagnóstico da tuberculose latente	16
1.4.1. Prova tuberculínica	17
1.4.2. Novos métodos diagnósticos de TBIL	18
1.4.3. Citometria de fluxo	21
1.5. Artrite reumatoide	22
1.5.1. Patologia e patogenia da artrite reumatoide	23
1.5.2. Manifestações pulmonares na artrite reumatoide	25
2. OBJETIVOS	27
2.1. Objetivo geral	27
2.2. Objetivos específicos	27
3. ARTIGOS	28
ARTIGO 1 – Tuberculose em paciente com artrite reumatoide: a dificuldade no diagnostico da forma latente	29
Resumo	29
Abstract	29
Introdução	29
Caso Clínico	30
A resposta inflamatória na artrite reumatoide e na tuberculose	30
Bloqueadores do TNF- α e tuberculose	31
A infecção latente	32
Novos testes para o diagnóstico de tuberculose latente	34
Considerações finais	35
Referências	35
Sobre os autores	37
4. TEXTO DE LIGAÇÃO	38
ARTIGO 2– Tuberculose latente em pacientes com artrite reumatoide. Avaliação da resposta celular e novas estratégias diagnósticas	39
Resumo	39
Abstract	40
Introdução	41

Materiais e Métodos	41
Participantes	41
Procedimentos	42
Prova tuberculínica	42
Citometria de fluxo	42
T.SPOT-TB	43
Tomografia computadorizada de alta resolução	43
Análise estatística	44
Resultados	45
Discussão	51
Referências	57
5. CONCLUSÕES	61
6. PERSPECTIVAS	62
7. REFERÊNCIAS	63
8. ANEXOS	70
ANEXO I	70
ANEXO II	73
ANEXO III	75

RESUMO

O diagnóstico de tuberculose latente (TBIL) em pacientes com artrite reumatoide (AR) ganhou especial importância com o advento do uso dos agentes anti necrose tumoral (anti-TNF- α) e o surgimento de casos de tuberculose ativa nesses pacientes. A prova tuberculínica (PT), teste utilizado há mais de um século no diagnóstico de TBIL, apresenta valor limitado entre os pacientes com AR. Novos exames que se baseiam na produção e liberação de interferon-gamma (IFN- γ) vêm sendo estudados, mas ainda não têm seu papel bem estabelecido neste grupo de pacientes. No presente trabalho é realizada uma revisão sobre o uso dos anti-TNF- α e seu papel no desenvolvimento da tuberculose, a utilização da PT para o diagnóstico de TBIL nos pacientes com AR e os novos testes para o diagnóstico de TBIL ilustrado com um caso de uma paciente que desenvolveu tuberculose após o início do uso do anti-TNF- α . Segue-se um estudo de comparação do diagnóstico de TBIL em um grupo de pacientes com AR através da resposta imune celular, frente à prova tuberculínica, T.SPOT-TB e medida da produção de IFN- γ pela citometria de fluxo após estímulo com Hsp α e através de alterações tomográficas compatíveis com TBIL. Observou-se que a resposta à PT foi menor nos pacientes com AR (13,5%) do que a resposta esperada para população geral. Observou-se ainda que o T.SPOT-TB identificou um maior número de pacientes com TBIL em relação à PT (36,8%). A produção de IFN- γ em resposta ao Hsp α não foi estatisticamente diferente entre os grupos considerados como TBIL (PT e/ou T.SPOT-TB positivos) ou NÃO TBIL (PT e T.SPOT-TB negativos). E, finalmente, a tomografia computadorizada de alta resolução apresentou alterações compatíveis com TBIL em 52,9% dos pacientes estudados, inclusive entre oito dos onze pacientes com PT e T.SPOT-TB negativos. Conclusão: A PT isoladamente é insuficiente para o diagnóstico de TBIL. O T.SPOT TB apresentou maior número de resultados positivos em relação à PT mas foi negativo em grande porcentagem de pacientes com alterações tomográficas bastante sugestivas de TBIL. A TCAR é um exame acessível na maior parte dos grandes centros e deve ser incorporada na estratégia diagnóstica de TBIL em pacientes com AR.

ABSTRACT

The diagnosis of latent tuberculosis (TBIL) in patients with rheumatoid arthritis (RA) has got special importance with the advent of anti tumor necrosis factor (anti-TNF- α) and the arise of cases of active tuberculosis in these patients. The tuberculin skin test (TST) is a test used for more than a century on the diagnosis of TBIL but has limited value in patients with RA. New tests that are based on the production and release of interferon-gamma (IFN- γ) have been studied but its role has not yet been well established in this group of patients. This paper shows a review about the use of anti-TNF- α and its role on the development of tuberculosis, the use of the TST for the diagnosis of TBIL in patients with RA and new tests for diagnosis of TBIL. The review is illustrated with a case of a patient who developed tuberculosis after starting the use of anti-TNF- α . In the sequence, a study comparing the diagnostic TBIL in a group of RA patients by cellular immune response, compared to TST, T.SPOT-TB and measurement of IFN- γ by flow cytometry after stimulation with Hsp α and through computed tomography changes consistent with TBIL. It was observed that the response to TST was lower in RA patients (13.5%) than the expected response to the general population. We also observed that the T.SPOT-TB identified a greater number of patients with TBIL compared to PT (36.8%). The IFN- γ in response to Hsp α was not statistically different among the groups considered TBIL (TST and / or T.SPOT-TB positives) or NO TBIL (TST and T.SPOT-TB negatives). Finally, HRCT showed changes consistent with TBIL in 52.9% of patients, including eight of the eleven patients with TST and T.SPOT TB negatives. Conclusion: The TST alone is not appropriate for the diagnosis of TBIL. The T SPOT TB showed a higher number of positives results compared to TST but was negative in a large percentage of patients with CT changes highly suggestive of TBIL. HRCT is accessible in most major centers and should be incorporated in the diagnostic strategy of TBIL in patients with RA.

1 INTRODUÇÃO / REVISÃO DA LITERATURA

A tuberculose (TB) continua sendo um problema mundial de saúde pública, que afeta predominantemente a faixa economicamente ativa da população. Apesar de uma pequena redução da incidência em todo mundo, o aumento absoluto da população fez a incidência estimada mundial aumentar de 9,3 milhões de casos em 2007 para 9,4 milhões em 2008, com uma prevalência mundial estimada em 11,1 milhões de casos (164casos/100.000 pessoas). A maioria dos casos é proveniente da Ásia e África. Apesar de o Brasil ser ainda um dos 22 países responsáveis por 90% dos casos de TB no mundo, até o ano de 2007, ocorreu em nosso país uma queda de 26% na incidência e de 32% na mortalidade por tuberculose (WHO 2009). Em 2007 foram notificados mais de 87 mil casos no Brasil, 756 casos novos em Goiás e 195 em Goiânia (Ministério da Saúde, DATASUS 2009).

Várias diretrizes vêm sendo divulgadas por órgãos internacionais com o objetivo de deter a epidemia de tuberculose. Entre elas, destaca-se o “Segundo Plano Global para Acabar com a TB no Mundo (2006-2015)” da parceria Stop TB, sob as recomendações da Organização Mundial de Saúde que se baseia principalmente nos seguintes componentes: ampliação e aperfeiçoamento da estratégia DOTS; manuseio da associação TB/HIV, manuseio da TB multirresistente e outros desafios; fortalecimento dos sistemas de saúde; engajamento de provedores de assistência global; apoio dos portadores de TB e das comunidades; e promoção de pesquisas (WHO 2009).

No Brasil, pela alta incidência da doença, a estratégia de controle baseia-se, principalmente, na busca de casos de TB em atividade, seja através da busca passiva (investigação nos pacientes sintomáticos que buscam o sistema de saúde), seja através da busca ativa (questionamento ativo sobre sintomas respiratórios em pacientes sem queixas espontâneas, principalmente em grupos com maior risco de adoecimento) (Conde e cols 2009, Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde 2002). No entanto, em algumas situações, o diagnóstico e tratamento da tuberculose latente (TBIL) assumem grande importância, pelo maior risco de adoecimento que esses pacientes apresentam. Estão neste grupo pacientes HIV positivos, contatos recentes de pacientes com TB ativa, candidatos a transplante ou transplantados e outros pacientes com imunossupressão por alguma doença associada (diabetes, silicose, neoplasias, insuficiência renal em hemodiálise, etc.) ou pelo uso de drogas imunossupressoras

(corticóides em doses altas e agentes inibidores do fator de necrose tumoral-alfa)(Conde e cols. 2009).

Com o advento do uso dos agentes anti-fator de necrose tumoral-alpha (anti-TNF- α) em pacientes com AR, doenças inflamatórias intestinais e outras doenças auto-imunes, casos de tuberculose pulmonar e extra pulmonar passaram a ser notificados nesses pacientes (Gardam e cols. 2003), fazendo com que os profissionais envolvidos na prescrição dessas medicações e no tratamento da tuberculose voltassem sua atenção para a importância do diagnóstico da TBIL neste grupo.

Assim, o entendimento do real valor dos exames já utilizados para o diagnóstico de TBIL em grupos específicos de pacientes e o desenvolvimento de novos testes e estratégias diagnósticas são de fundamental importância.

1.1. *Mycobacterium tuberculosis*

A tuberculose inicialmente foi uma doença de mamíferos inferiores e seu agente etiológico, o *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tuberculosis*), provavelmente precedeu o desenvolvimento do homem na Terra. Tornou-se uma doença endêmica quando o homem começou a viver em vilas e a trabalhar com agricultura. Existem evidências da existência da doença desde as primeiras civilizações. Com o crescimento desordenado de cidades da Europa entre os anos 1600 e 1700 a tuberculose tornou-se epidêmica, de forma que em alguns locais, até 25% de todas as mortes foram atribuídas à doença, que foi então denominada “a grande praga branca” (Bates e Stead 1993).

O *M.tuberculosis* foi descoberto por Robert Kock em 1882. Pertence a um complexo denominado Complexo *Mycobacterium tuberculosis* que é composto também por outras espécies: *M. bovis subsp. bovis*, *M. africanum* e *M. microti*, além da cepa vacinal *M. bovis* BCG. Tem sido proposta a inclusão de novas espécies neste complexo, como *M. canettii*, uma variante de *M. tuberculosis* encontrada na região da Somália (Van Soolingen e cols. 1997), *M. caprae*, agente etiológico de tuberculose em caprinos (Aranaz e cols. 2003), e *M. pinnipedii*, que causa tuberculose em leões marinhos, mas que também pode infectar o homem (Cousins e cols. 2003). O *M. tuberculosis* é um bacilo não formador de esporos, sem flagelos, não produtor de toxinas. É uma espécie aeróbica estrita e intracelular facultativo, capaz de sobreviver no interior de células fagocitárias. Diminuições na concentração de oxigênio do

ambiente resultam em substancial redução na sua taxa de crescimento (Goodwin e Des Prez 1983). Em comparação a outras bactérias possui um alto conteúdo lipídico (mais de 25% comparado com 0,5% nos gram positivos e 3% nos bacilos gram negativos). Sua parede é constituída principalmente por ácidos micólicos (ácidos graxos de cadeia longa), que ligados aos peptidoglicanos, formam uma barreira periférica hidrofóbica capaz de se ligar e reter a fucsina durante a coloração de Ziehl-Nielsen e mantém o corante após lavagens com soluções de álcool e ácido (Fraser e Paré 1999). Seu tempo de geração é longo, podendo variar de 14 a 20 horas dependendo do meio de cultura empregado.

A capacidade de adaptação do *M.tuberculosis* a períodos prolongados de dormência nos tecidos, confere-lhe a capacidade de causar infecção latente no hospedeiro (Wayne 1994).

1.2. Antígenos do *Mycobacterium tuberculosis*

Muitas das proteínas que são produzidas pelo *M. tuberculosis* atuam como antígenos, estimulando a resposta imune do hospedeiro que foi infectado. A importância desses antígenos para o diagnóstico da tuberculose e para análises epidemiológicas tem sido reconhecida há muitos anos (Andersen e cols. 2000).

Os primeiros antígenos utilizados eram provenientes de filtrados de culturas de *M. tuberculosis* e de BCG. Pelo grande número de antígenos em comum com outros microorganismos, ensaios utilizando esses filtrados apresentavam baixa especificidade (Daniel e Debanne 1987). O Purified Protein Derivative (PPD) é um preparado de antígenos a partir da precipitação de proteínas de culturas de *M.tuberculosis* mortas pelo calor, que resulta em uma mistura de antígenos complexos que contém várias proteínas em diferentes estágios de desnaturação (Andersen e cols. 2000). Vem sendo utilizado há mais de um século na realização da prova tuberculínica e também na detecção in vitro de interferon-gamma (IFN- γ) secretado por linfócitos sensibilizados.

A busca por antígenos cada vez mais específicos foi possível após o sequenciamento do genoma do *M.tuberculosis* e o reconhecimento das regiões de diferença. Dois antígenos importantes, muito estudados na atualidade são o CFP-10 (Culture filtrate protein 10-kDa) e o ESAT-6 (Early Secreted Antigenic Target 6-kDa). Ambos são produzidos na RD1(região de diferença 1), presente na maioria das

micobactérias patogênicas e ausentes na cepa vacinal do *Mycobacterium bovis* (Cockle e cols. 2002).

O antígeno Hsp_x (Rv2031c, 16-kDa ou proteína α -cristalina) faz parte da família das proteínas de choque térmico, e age pelo menos em algumas circunstâncias como uma chaperonina, prevenindo agregação termicamente induzida de outras proteínas (Chang e cols. 1996). É expresso durante a infecção em humanos e pode ser identificado na maioria dos pacientes com tuberculose. No entanto sua produção parece estar aumentada quando a bactéria passa a um estado de repouso metabólico com diminuição da replicação, como acontece em condição hostil (privação de nutrientes e oxigênio) e diminuída se ela reverte para crescimento exponencial (Hu e Coates 1999, Yuan e cols. 1996). Já foi demonstrado também que bactérias deficientes para o gene que codifica o Hsp_x (Acr) têm sua capacidade de sobreviver dentro de macrófagos diminuída. Esse achado sugere a importância dessa proteína na viabilidade a longo termo do *M.tuberculosis*, como acontece durante a latência, nas infecções assintomáticas (Yuan e cols. 1998).

1.3. Patogenia e resposta imune geral na tuberculose

Na grande maioria dos casos a tuberculose é adquirida por via inalatória. O risco de infecção relaciona-se com o grau de contagiosidade do indivíduo primariamente infectado, a intensidade e natureza do contato e a adequada defesa do indivíduo exposto (Fraser e Paré 1999). O grau de contagiosidade associa-se com variáveis como extensão da doença pulmonar e presença de cavitações, frequência e intensidade da tosse e virulência do bacilo. É sabido, por exemplo, que indivíduos com presença de BAAR no escarro são mais contagiosos que aqueles com escarro negativo e que quanto maior o número de bacilos no escarro, maior é a contagiosidade (Liipo e cols. 1993). A transmissão ocorre quando um indivíduo com tuberculose pulmonar tosse, espirra, fala ou canta e elimina gotículas contaminadas. As gotículas mais pesadas depositam-se no chão, enquanto as mais leves permanecem em suspensão no ar. Somente o núcleo seco da gotícula, também chamado núcleo de Wells, com diâmetro inferior a 5 μ e contendo um a três bacilos, consegue atingir os bronquíolos (Kritski e cols. 2008, Fraser e Paré 1999). Partículas maiores são eficientemente excluídas do trato respiratório inferior pelas barreiras físicas da nasofaringe e trato respiratório superior. Uma vez que o bacilo tenha atingido os alvéolos, quatro desfechos podem ocorrer: (1) a resposta inicial do

hospedeiro pode ser completamente efetiva e matar todos os bacilos de forma que o paciente não terá chance de desenvolver tuberculose no futuro; (2) os bacilos podem começar a se multiplicar imediatamente após a infecção causando doença clínica (tuberculose primária); (3) os bacilos podem tornar-se dormentes e nunca causar doença (infecção latente) ou (4) os bacilos em latência podem eventualmente voltar a crescer e multiplicar-se, resultando em doença clínica (reativação) (Schluger e Rom 1998).

Nos alvéolos, a primeira defesa contra o *M.tuberculosis* é o macrófago alveolar. Esta célula liga-se ao bacilo através de receptores de complemento (CR1, CR3 e CR4) e de manose, e emite pseudópodos que se fundem distalmente ao bacilo internalizando-o (Schlesinger 1996). Células dendríticas que também fagocitaram a micobactéria migram, pelo sistema linfático em direção ao linfonodo regional, originando o complexo de Gohn. Alguns macrófagos infectados permanecem no tecido pulmonar. A partir da fusão do fagossomo e do lisossomo, antígenos podem ser processados, e posteriormente apresentados aos linfócitos T auxiliares (CD4⁺), através do complexo principal de histocompatibilidade de classe II, presente apenas em macrófagos, células dendríticas e linfócitos B (também denominados células apresentadoras de antígenos). Células CD4⁺ do tipo 1 (Th1) desempenham a função principal na resposta imune à micobactéria. Contudo, células T-citotóxicas (CD8⁺), que reconhecem antígenos oriundos do citoplasma (tumoriais ou virais), também participam da resposta imune ao *M.tuberculosis*. Células T CD8⁺ são capazes de reconhecer fragmentos peptídicos ligados ao MHC classe I, moléculas expressas em praticamente todas as células diferenciadas ou maduras do organismo (North e Jung 2004). Os linfócitos ativados liberam citocinas e recrutam outros linfócitos, macrófagos e fibroblastos. As citocinas, moléculas produzidas e secretadas por diferentes células imunocompetentes após algum estímulo, são um componente central da defesa contra as micobactérias. Em todos os estágios da resposta imune, as citocinas produzidas participam dos processos regulatórios, assim como das funções efetoras. A principal citocina envolvida na formação do granuloma é o fator de necrose tumoral alpha (TNF- α), liberado pelos macrófagos logo após a exposição a antígenos do *M. tuberculosis*. O TNF- α recruta neutrófilos e monócitos circulantes ao mesmo tempo em que outras citocinas, como o IFN- γ produzido pelas células T e pelas células NK, potencializa as atividades antimicrobicidas, ativando macrófagos e células dendríticas (Flynn & Chan 2001).

O reconhecimento da micobactéria e posterior secreção de IL-12 por macrófagos são processos iniciados antes da apresentação de antígenos do *M.tuberculosis* aos linfócitos T. A IL-12 induz a produção de interferon-gamma (INF- γ) em células NK, na fase inicial da resposta imune, e também induz a ativação, diferenciação, produção de INF- γ e expansão de células Th1 antígeno-específicas. Esse perfil de reação imune, chamado resposta Th1, tem como objetivo final destruir o *M.tuberculosis*, formando um granuloma fibrosado. A formação do granuloma contém o *M.tuberculosis*, prevenindo o desenvolvimento de doença ativa e, em indivíduos imunocompetentes, contendo a infecção neste estágio (Teixeira e cols. 2007, Kaufmann 2004, North e Jung 2004). No entanto, estudos recentes sugerem que o granuloma, lesão inflamatória crônica marcadora de tuberculose, que tem sido considerada ao longo de décadas necessária para conter a infecção pelo *M.tuberculosis*, possa ter papel na promoção da infecção (Rubin 2009, Davis e Ramakrishnan 2009). Se por um lado os macrófagos ativados são capazes de matar ou pelo menos de controlar o crescimento do *M.tuberculosis*, por outro lado essas células fornecem um nicho inicial de crescimento para o bacilo (Rubin 2009). Em recente estudo com embriões de peixe zebra infectados por *M.marinum*, Davis e Ramakrishnan demonstraram que os macrófagos infectados pela micobactéria atraem macrófagos não infectados que tornam-se infectados após a morte dos primeiros por apoptose, permitindo assim crescimento bacteriano contínuo.

Entre os 2 bilhões de pessoas infectadas pelo *M.tuberculosis* em todo o mundo, 8 a 9 milhões desenvolverão a doença anualmente, o que mostra que a resposta imune estimulada durante a infecção é eficaz na grande maioria dos indivíduos.

1.4. Diagnóstico da tuberculose latente

O tratamento da tuberculose ativa é a principal prioridade dos programas de controle, principalmente nos países com alta prevalência da doença. Por outro lado, a identificação e tratamento, quando indicado, dos indivíduos com tuberculose latente, também é uma importante medida de controle da doença. Na maioria dos indivíduos, a infecção pelo *M.tuberculosis* é contida pelas defesas do hospedeiro, como já descrito, e a infecção permanece latente. No entanto a TBIL tem o potencial para evoluir para doença ativa em qualquer momento (Jasmer e Nahid 2002). Portanto, é de grande importância o diagnóstico e tratamento da TBIL, principalmente em grupos de pacientes

que estão em maior risco de adoecimento como: contatos recentes de caso bacilífero, pacientes HIV positivos, imunossuprimidos por uso de medicações ou doenças, candidatos a transplantes e outros (Conde e cols. 2009). Pela pequena quantidade de bacilos existentes na TBIL, o tratamento da infecção latente requer menos drogas que o tratamento da doença ativa. O uso de uma única droga é suficiente. O tratamento da TBIL diminui dramaticamente o risco de se desenvolver TB ativa (Dooley e Sterling 2005). O medicamento atualmente indicado é a isoniazida na dose de 5-10 mg/kg de peso até 300 mg/dia por 6 meses. A possibilidade do diagnóstico de TB doença deve ser sempre afastada antes de ser iniciado o tratamento da TBIL (Conde e cols. 2009).

1.4.1. Prova tuberculínica

Até recentemente, a prova tuberculínica (PT) era o único teste disponível para o diagnóstico da TBIL. Vem sendo usado desde 1910 e é o teste diagnóstico mais antigo ainda em uso até os dias atuais (Richeldl 2006). O método mais utilizado é o intradérmico ou de Mantoux e a tuberculina utilizada é o PPD Rt 23(pretein-purified derivative). Deve ser aplicada na face anterior do antebraço na dose de 0,1ml, equivalente a 2 UT(unidades de tuberculina). A leitura deve ser realizada 72 à 96h após a aplicação através da medida da área de induração palpável no maior diâmetro transversal perpendicular ao maior eixo do antebraço. O resultado deve ser registrado em milímetros (Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde 2002). O teste baseia-se na reação de hipersensibilidade tardia aos componentes antigênicos que compõe o filtrado protéico purificado com migração de linfócitos para o local de aplicação. O Ministério da Saúde, através de seu Guia de Vigilância Epidemiológica em Tuberculose (Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde 2002) recomenda que a leitura deve seguir os seguintes pontos de corte:

- 0mm a 4mm – não reator
- 5mm a 9mm – reator fraco.
- 10mm ou mais – reator forte

Sua interpretação, no entanto, depende do contexto clínico e em recente publicação da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia (Conde e cols. 2009) a recomendação é que a PT seja utilizada, como critério para tratamento da TBIL, da seguinte forma:

≥ 5mm – HIV positivos, contatos recentes de TB ativa vacinados há mais de 2 anos, alterações fibróticas na radiografia compatível com TB prévia não tratada, transplantados ou em uso de terapia imunossupressora (inclusive candidatos ao uso de anti-TNF- α).

≥ 10 mm – contatos recentes (2 anos) de TB pulmonar vacinados com BCG (Bacille de Calmete-Guérin) há 2 anos ou menos, usuários de drogas injetáveis, pacientes com depressão da imunidade por diabetes mellitus insulino dependente, silicose, linfomas, neoplasia de cabeça, pescoço e pulmão, outros procedimentos como gastrectomia, hemodiálise, by-pass gastrointestinal, populações indígenas.

Uma das limitações do teste é a baixa especificidade. O PPD é obtido de um caldo de cultura onde cresceram *Mycobacterium tuberculosis*, aquecido, filtrado e diluído, que contém mais de 200 antígenos em comum com a vacina BCG e com a maioria das micobactérias não tuberculosas. Outro problema é a baixa sensibilidade. Os grupos de alto risco que precisam ser testados para um possível tratamento da TBIL são justamente os grupos em que se encontra um maior número de falsos negativos à PT (Richeldl 2006).

1.4.2. Novos métodos diagnósticos de TBIL

Recentes avanços do estudo genômico das micobactérias resultaram em dois novos testes que detectam infecção tuberculosa pela medida in vitro da produção de IFN- γ por células T em resposta a dois antígenos altamente específicos para *M.tuberculosis*, mas ausentes na vacina BCG e na maioria das micobactérias não-tuberculosas (Lalvani 2007). Estes testes imunológicos baseiam-se no conceito de que células T de indivíduos previamente sensibilizados por antígenos do *M.tuberculosis* (células T de memória) liberam IFN- γ quando reestimuladas por antígenos específicos. Ao contrário da prova tuberculínica, é realizado ex vivo, ou seja, através da cultura de uma amostra de células do sangue periférico do paciente (Munk e cols. 2001).

O primeiro teste imunológico, o QuantiFERON, utiliza a tecnologia de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Para realizar o ELISA, o sangue total do paciente é incubado com os antígenos em uma placa por 24 horas. Se o paciente já teve contato com os antígenos previamente, as células T vão reconhecê-los e passar a secretar IFN- γ . A placa é centrifugada e o plasma é transferido para uma placa de 96

poços previamente preparada com anticorpos anti IFN- γ . A citocina é capturada por esses anticorpos e esses conjuntos são subsequentemente detectados com outro anticorpo conjugado a uma enzima que cataliza uma reação colorimétrica. A densidade óptica de cada poço é medida e a concentração de IFN- γ é determinada em uma curva (Lalvani 2007).

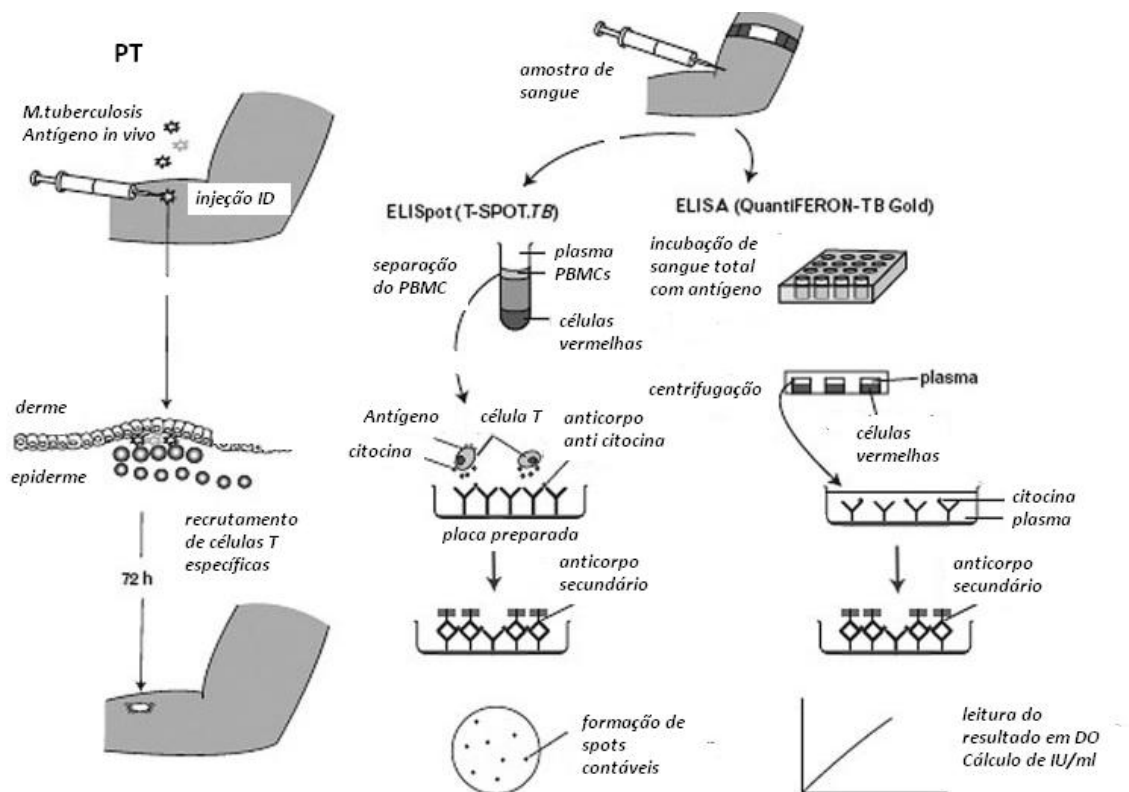
O QuantiFERON-TB[®] foi aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) em 2001 como método de diagnóstico de TBIL. Os linfócitos periféricos são estimulados por antígenos da micobactéria, preparados a partir do PPD. A concentração de IFN- γ secretada é determinada através de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Esta primeira geração de ensaios imunológicos apresentava as mesmas limitações da PT (pois utilizava antígenos do PPD): baixa especificidade apesar de alta sensibilidade. O QuantiFERON-TB não está mais disponível comercialmente (Mazurek e cols. 2005).

O QuantiFERON-TB-GOLD[®] (QTF-G) foi aprovado em maio de 2005 como ferramenta diagnóstica tanto para TBIL quanto para TB ativa. O teste utiliza como antígenos o CFP-10 e o ESAT-6. Como descrito anteriormente estes antígenos estão presentes no *M.tuberculosis* e ausentes na vacina BCG e na maioria das micobactérias não tuberculosas, o que confere uma maior especificidade ao teste se comparado à PT e ao QuantiFERON-TB[®] . O exame oferece vantagens como resultado em 24h após a coleta, visita única ao laboratório e não está sujeito a erros de leitura, como a PT. No entanto, erros na coleta do sangue e na realização do teste podem diminuir sua acurácia (Mazurek e cols. 2005). Em recente revisão sistemática, analisou-se resultados de 22 estudos de sensibilidade com QTF-G e QTF-G In Tube que incluíram somente pacientes com tuberculose confirmada microbiologicamente. Entre os estudos, três foram conduzidos em países com alta taxa de tuberculose. Os resultados de sensibilidade não foram consistentes, 76%(95% CI, 72% a 80%) e a sensibilidade dos testes foi menor nos países com alta taxa de tuberculose. Na mesma meta-análise foram comparados estudos de especificidade. Dezesesseis estudos foram incluídos, todos conduzidos em países com baixa prevalência de TB, em indivíduos saudáveis, sem exposição conhecida à tuberculose . O resultado foi bastante consistente, 98% de especificidade (CI, 96% a 99%) na análise total dos estudos, 99%(CI, 98% a 100%) para o QuantiFERON em populações não vacinadas com BCG e 96%(CI, 86% a 100%) em populações vacinadas, mostrando uma excelente especificidade dos testes QuantiFERON em populações com essas características.Vale ressaltar que esta meta-

análise excluiu estudos que envolviam somente pacientes imunossuprimidos (Pai e cols. 2008).

O outro teste que se baseia na liberação de IFN- γ é o ensaio de ELISPOT (enzyme linked immunospot), no qual o número de células produtoras de IFN- γ pode ser quantificado. No ELISPOT, células mononucleares do sangue periférico (PBMC) que incluem células T, são separadas, lavadas, contadas e então incubadas com os antígenos em uma placa previamente preparada com anticorpos anti-IFN- γ . Se o paciente tem infecção pelo *M.tuberculosis*, as células T reconhecem os antígenos e secretam IFN- γ que é capturado pelos anticorpos da placa. Este conjugado é posteriormente detectado com outro anticorpo conjugado a uma enzima que cataliza uma reação colorimétrica resultando em postos visíveis (spots). O método é qualitativo e quantitativo, pois cada spot representa uma célula que respondeu ao antígeno (Lalvani 2007). O T.SPOT-TB é um kit comercial que emprega ESAT-6 e CFP-10 como antígenos específicos para a estimulação dos linfócitos T sanguíneos. Este ensaio foi aprovado recentemente pelo FDA, em julho de 2008, como auxílio diagnóstico de TBIL e tuberculose ativa (FDA 2010). Recente meta-análise avaliou 13 estudos de sensibilidade em pacientes com tuberculose ativa com T.SPOT-TB, que incluíam 726 participantes com tuberculose ativa confirmada bacteriologicamente. Nenhum dos estudos foi conduzido em país de alta prevalência de tuberculose. A sensibilidade foi de 90%(CI, 86% a 93%), superior à sensibilidade observada nos estudos com QuantiFERON-TB. Na análise da especificidade, que incluiu 6 estudos em um total de 290 participantes em populações de muito baixo risco para TBIL, indivíduos saudáveis e sem exposição conhecida (2 estudos com o kit comercial T-SPOT.TB e 4 usando versões de ELISPOT pré comerciais), observou-se especificidade total de 93%(CI, 86% a 100%) e ,quando avaliados somente estudos com o kit comercial, especificidade de 87%(CI, 80% a 100%)(Pai e cols. 2008). Esses resultados devem ser observados com cautela pois sensibilidade e especificidade para tuberculose ativa podem não traduzir acurácia para tuberculose latente.

Abaixo, representação esquemática dos três testes descritos:



Fonte: modificado de Lalvani (2007)

1.4.3. Citometria de fluxo

A análise de células por citometria de fluxo começou a ser usada há cerca de 75 anos, quando em 1934, Moldovan descreveu um método fotoelétrico para contar células que fluíam através de um tubo capilar com auxílio de um microscópio. O sistema foi aperfeiçoado e modernizado ao longo dos anos e teve suas aplicações muito ampliadas. Esta tecnologia permite que características estruturais e funcionais de partículas biológicas (células, protozoários, bactérias, etc.) sejam avaliadas através da utilização de radiação laser, fluxo hidrodinâmico, ótica, substâncias fluorescentes (fluorocromos) e recursos de informática. Os citômetros de fluxo, como são chamados os equipamentos utilizados para esse fim, têm como princípio básico aspirar células ou partículas de uma suspensão previamente preparada e forçá-las a passar por uma câmara especial que faz com que as células fiquem envolvidas e centralizadas num fluxo contínuo de líquido e saiam desta câmara uma atrás da outra de modo que uma única célula seja interceptada de cada vez pelo laser. Ao se chocar com cada célula, o laser é desviado e esta mudança de direção é registrada por detectores especiais, capazes de levar as informações para

um sistema de computador, com programa próprio para armazenamento e análise dos dados associados a cada célula em uma dada população (Davey e Kell 1996, Bertho).

1.5. Artrite reumatoide

A artrite reumatoide (AR) é uma doença auto-imune de etiologia desconhecida, caracterizada por poliartrite periférica, simétrica, que leva a deformidade e destruição das articulações em virtude de erosões ósseas e da cartilagem (Lipski 2006). Estudos epidemiológicos estimam a prevalência de AR em 1% da população adulta, afetando três vezes mais mulheres do que homens e com pico de incidência entre os 35 e 65 anos (Hochberg 1981). Estudo multicêntrico no Brasil verificou prevalência em adultos variando de 0,2% a 1% (Marques Neto e cols. 1993).

Em geral, o início dos sintomas de artralgia e edema é insidioso, ocorrendo em semanas a meses. No entanto, uma minoria dos pacientes pode se apresentar com início súbito de poliartrite. No início da doença pequenas articulações das mãos e pés são mais afetadas. Com a progressão da doença, grandes articulações como os tornozelos, joelhos, cotovelos e ombros frequentemente tornam-se comprometidas. O comprometimento articular é simétrico e presença de rigidez matinal por mais de uma hora é um sintoma frequente. Os pacientes podem ainda ter sintomas constitucionais como febre baixa, fadiga, astenia, mialgia, anorexia e perda de peso, sintomas que se devem aos efeitos sistêmicos da inflamação. Pode haver comprometimento extra articular em até 40% dos pacientes: nódulos reumatoides, comprometimento pleuropulmonar, esclerite, xerostomia (Thelirian e Bathon 2008).

O diagnóstico depende da associação de uma série de sintomas e sinais clínicos, achados laboratoriais e radiográficos. A orientação da Sociedade Brasileira de Reumatologia (Bértolo e cols. 2007) para o diagnóstico baseia-se nos critérios de classificação do Colégio Americano de Reumatologia (Arnett e cols. 1988):

1. Rigidez matinal: rigidez articular durando pelo menos uma hora
2. Artrite de três ou mais áreas: pelo menos 3 áreas articulares com edema de partes moles ou derrame articular, observado pelo médico.
3. Artrite de articulações de mãos (punho, interfalangeanas proximais e metacarpofalangeanas).
4. Artrite simétrica

5. Nódulo reumatoide
6. Fator reumatoide sérico
7. Alterações radiográficas: erosões ou descalcificações localizadas em radiografias de mãos e punhos.

OBS: quatro dos sete critérios são necessários para classificar um paciente como tendo AR e os critérios de 1 a 4 devem estar presentes por pelo menos seis semanas.

1.5.1. Patologia e patogênese da AR

A sinóvia é o sítio primário de inflamação na AR. A sinóvia normal é formada por uma camada de revestimento íntima que é usualmente descontínua, uma a duas camadas celulares finas e carece de uma membrana basal subjacente. A camada abaixo da íntima contém vasos sanguíneos, linfáticos, nervos e adipócitos distribuídos em uma matriz fibrosa pouco celular. A camada íntima é composta de dois tipos celulares: sinoviócitos tipo A (células fagocitárias que expressam numerosos marcadores) e sinoviócitos tipo B (responsáveis pela síntese extracelular de colágeno, fibronectina e ácido hialurônico). A membrana sinovial do paciente com AR é caracterizada por hiperplasia, aumento da vascularização e infiltrado inflamatório composto principalmente por células T CD4+ mas também por linfócitos B, macrófagos, células dendríticas e células natural killers (NK). Ocorre um aumento no número dos sinoviócitos tipo A e B, com aumento da profundidade da camada de revestimento para até 10 camadas celulares. Projeções vilosas protruem para dentro da cavidade articular invadindo a cartilagem subjacente e osso. Esse tecido proliferado é chamado “pannus” (Thelirian e Bathon 2008).

Estudos genéticos mostram uma importante ligação da AR com antígenos do MHC classe II, cuja principal função é apresentar antígenos às células T CD4+, o que sugere que a AR possa ser causada por algum antígeno não identificado. O antígeno poderia ser exógeno como uma proteína viral ou uma proteína endógena (Choy e Panayi 2001). Desde as observações clínicas descritas por Poncet em 1897, de que pacientes com tuberculose passavam a desenvolver quadro de poliartrite simétrica, normalmente em mãos e pés, sem que se conseguisse isolar o *M.tuberculosis* nas articulações envolvidas, vários pesquisadores têm tentado estabelecer relação entre a presença de antígenos de micobactérias e AR (Carvalho e cols. 2002). Com o advento da biologia molecular e o

início do uso da reação em cadeia de polimerase (PCR) reascendeu-se a pesquisa de DNA do *M.tuberculosis* em pacientes com AR (Jalal e cols. 1994, Pras e cols. 1996, Kempell e cols. 2001). No entanto, até o momento estas pesquisas têm sido infrutíferas.

As células T CD4⁺ antígeno-ativadas estimulam monócitos, macrófagos e fibroblastos sinoviais a produzirem as citocinas interleucina-1(IL-1), interleucina-6(IL-6) e TNF- α e a secretar metaloproteinases através dos sinalizadores de superfície CD69 e CD11 e mediadores solúveis como o IFN- γ e interleucina-17 (IL-17) . As células T CD4⁺ ativadas também estimulam as células B a produzirem imunoglobulinas, incluindo o fator reumatóide. A IL-1, IL-6 e o TNF- α desempenham juntos um importante papel na inflamação sinovial e destruição óssea (Choy e Panayi 2001). O melhor entendimento do papel desses mediadores inflamatórios na patogenia da artrite tem permitido o desenvolvimento de terapias efetivas com foco nesses mediadores (Suresh 2010).

1.5.2. Manifestações pulmonares na artrite reumatóide

Comprometimento pulmonar é causa importante de morbidade e mortalidade na AR. A doença pulmonar manifesta-se mais frequentemente como doença intersticial, doença de vias aéreas, nódulos reumatoides ou derrame pleural. Outras alterações menos frequentes também estão listadas no quadro abaixo.

Envolvimento pulmonar na artrite reumatóide	
Doença intersticial pulmonar	Nódulos pulmonares
Pneumonia intersticial não específica	Nódulo reumatóide
Pneumonia intersticial usual	Síndrome de Caplan
Bronquiolite folicular	Câncer de pulmão
Pneumonia intersticial linfocítica	Doença pulmonar relacionada a drogas
Dano alveolar difuso	Ouro
Pneumonia organizante	d-penicilamina
Doença pleural	Anti-inflamatórios
Pleurite	Antimetabólitos
Derrame pleural	Biológicos
Empiema	Infecção
Pneumotórax	Oportunistas
Fístula broncopleural	Bactérias
Vias aéreas	Micobactérias
Vias aéreas superiores	Doença vascular pulmonar
Artrite cricoaritenóide	Vasculites
Nódulos reumatoides	Hemorragia pulmonar
Vias aéreas inferiores	Hipertensão pulmonar
Obstrução de pequenas vias aéreas	Miscelânea
Bronquiectasias	Fraqueza de músculos respiratórios
Bronquiolite obliterante	Doença fibrobolhosa
Bronquiolite folicular	Amiloidose

Fonte: Antin-Ozerkis e col (2010)

Algumas das manifestações pulmonares devem-se diretamente à AR e podem ser resultado do defeito da imunidade da própria doença e à inflamação crônica; outras se devem a exposições e ao tratamento da doença de base (Antin-Ozerkis e cols. 2010). Estudo utilizando medidas de função pulmonar, particularmente medida da capacidade de difusão ao monóxido de carbono, mostrou doença intersticial pulmonar em 33% dos pacientes com AR (Popper e cols. 1972). A TCAR do tórax é um método pouco

invasivo e altamente sensível para detectar anormalidades do parênquima pulmonar. Estudo demonstrou padrão retículo-nodular em 62,9% e opacidade tipo vidro fosco em 20% dos pacientes com diagnóstico de AR estudados (n=52)(Bilgici e cols. 2004). O envolvimento pleural na AR é mais comum em pacientes mais velhos do sexo masculino. Os achados mais frequentes são espessamento pleural e cicatrizes, sendo o derrame pleural alteração menos frequente do que as anteriores (Antin-Ozerkis e cols. 2010). O envolvimento de vias aéreas na AR inclui a artrite cricoaritenóide, bronquiectasias, obstrução ao fluxo aéreo e bronquiólites. Nódulos reumatóides são comuns em pacientes com AR, sua frequência é maior em homens, principalmente naqueles com FR positivo (Kaye e cols. 1984). Ocorrem principalmente na pele e tecido subcutâneo mas pode acometer pulmões, coração e vias aéreas superiores (Antin-Ozerkis e cols. 2010). No pulmão, os nódulos geralmente são múltiplos, mas nódulo solitário também pode ocorrer. Localizam-se principalmente em regiões subpleurais e septais e ocorrem principalmente em lobos inferiores. Podem variar de poucos milímetros a 7 cm e com frequência cavitam (White e cols. 2001).

Algumas das drogas frequentemente usadas no tratamento da AR podem levar a alterações pulmonares. Os anti-inflamatórios não hormonais já foram reportados como causa de doença pulmonar eosinofílica e pneumonite de hipersensibilidade. Metotrexate, uma droga usada com frequência em pacientes com AR, pode causar toxicidade pulmonar por mecanismo desconhecido. A apresentação clínica é variável e pode incluir fibrose pulmonar, pleurite, derrame pleural, nódulos e hiperreatividade brônquica. A leflunomida e os antagonistas do TNF- α podem levar a exacerbação de doença intersticial pré-existente (Antin-Ozerkis e cols. 2010).

A avaliação de sintomas respiratórios em pacientes com AR é complicada pelo risco de infecção nesses pacientes, o uso de drogas com conhecida toxicidade pulmonar e envolvimento pulmonar causado pela própria AR. Por outro lado é importante que seja feita uma investigação adequada que permita uma intervenção precoce e adequada nas diversas situações, diminuindo assim a morbi-mortalidade dessas manifestações.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Avaliar a resposta imune celular contra antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* entre indivíduos com artrite reumatoide.

2.2. Objetivos específicos

- Estimar a resposta à prova tuberculínica com o derivado proteico purificado (PPD) em um grupo de pacientes com artrite reumatoide.

- Estimar a resposta ao T.SPOT-TB em um grupo de pacientes com artrite reumatoide e comparar esses resultados com os resultados da prova tuberculínica

- Avaliar, através da citometria de fluxo, a resposta celular específica ao antígeno Hsp α em um grupo de pacientes com artrite reumatoide e comparar esse resultado com os resultados da prova tuberculínica e T. SPOT-TB.

- Estimar a prevalência de alterações tomográficas compatíveis com tuberculose latente em um grupo de pacientes com artrite reumatoide e comparar esse resultado com os resultados da prova tuberculínica e T.SPOT-TB.

3 ARTIGOS

Artigo 1 – Tuberculose em pacientes com artrite reumatoide: a dificuldade no diagnóstico da forma latente

Autores: Daniela Graner Schuwartz Tannus Silva, Bruna Daniella de Souza Silva, Ana Paula Junqueira-Kipnis, Marcelo Fouad Rabahi

Revista: J Bras Pneumol. 2010;36(2):243-251

Artigo 2 – Tuberculose latente em pacientes com artrite reumatóide. Avaliação da resposta celular e novas estratégias diagnósticas.

Autores: Daniela Graner Schuwartz Tannus Silva, Bruna Daniella de Souza Silva, Pedro Paulo Teixeira e Silva Torres, Pedro José de Santana Junior, Ana Paula Junqueira-Kipnis, Marcelo Fouad Rabahi

Artigo Especial

Tuberculose em pacientes com artrite reumatoide: a dificuldade no diagnóstico da forma latente*

Tuberculosis in rheumatoid arthritis patients:
the difficulty in making the diagnosis of latent infection

Daniela Graner Schuwartz Tannus Silva, Bruna Daniella de Souza Silva,
Ana Paula Junqueira-Kipnis, Marcelo Fouad Rabahi

Resumo

Desde o início do uso de drogas anti-TNF para o tratamento da artrite reumatoide e outras doenças inflamatórias, casos de tuberculose pulmonar e extrapulmonar vêm sendo notificados em pacientes submetidos a tal tratamento. Na maioria das vezes, a doença se desenvolve durante as seis primeiras infusões. Todo paciente deve ser avaliado para tuberculose latente antes do início do uso de um bloqueador de TNF; no entanto, o diagnóstico de tuberculose latente é um desafio. A prova tuberculínica, o único teste disponível para a detecção de tuberculose latente por quase um século, apresenta uma série de limitações. Testes baseados na detecção da produção de IFN- γ in vitro por células mononucleares ativadas por antígenos específicos parecem ser mais acurados e vêm sendo pesquisados em pacientes com artrite reumatoide.

Descritores: Tuberculose pulmonar; Artrite reumatoide; Fator de necrose tumoral alfa; Infecção.

Abstract

Since the beginning of the use of anti-TNF in the treatment of rheumatoid arthritis and other inflammatory diseases, cases of pulmonary tuberculosis and extrapulmonary tuberculosis have been reported in patients receiving such treatment. In most cases, the disease develops by the time the patient has received the sixth infusion. Every patient should be evaluated for latent tuberculosis infection prior to the use of a TNF inhibitor. However, the diagnosis of latent tuberculosis infection is a challenge. The tuberculin test, which was the only test available to detect latent tuberculosis infection for nearly a century, presents a number of limitations. Tests based on the detection of the in-vitro production of IFN- γ by mononuclear cells activated by specific antigens appear to be more accurate and have been studied in patients with rheumatoid arthritis.

Keywords: Tuberculosis, pulmonary; Arthritis, rheumatoid; Tumor necrosis factor- α ; Infection.

Introdução

A cada dia, cerca de 25.000 pessoas adoecem por tuberculose e, em 2007, aproximadamente 1,7 milhões morreram por essa doença em todo o mundo.⁽¹⁾ Esses números fazem da tuberculose a principal causa de morte por doença infecciosa curável em adultos. No Brasil, os números também são alarmantes. Em 2008, foram notificados 81.660 casos novos. A taxa anual de incidência notificada no Brasil em 2005 foi de 43,7 casos por 100.000 habitantes e, no estado de Goiás, 17,35 casos por 100.000 habitantes.

Estima-se que 50 milhões de brasileiros estejam infectados pelo bacilo da tuberculose.⁽²⁾ Cerca de 5% de todos os indivíduos infectados pelo *Mycobacterium tuberculosis* desenvolverão tuberculose ativa nos dois primeiros anos após a infecção. A tuberculose latente é o período entre a penetração do bacilo no organismo e o aparecimento da tuberculose ativa.⁽³⁾ Os outros 95% dos indivíduos expostos irão conter o desenvolvimento da doença via uma resposta imune celular efetiva. Elementos que possam interferir

* Trabalho realizado no Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública e na Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Goiás, Goiânia (GO) Brasil.

Endereço para correspondência: Daniela Graner Schuwartz Tannus Silva. Rua 34 eq. com 13, 157, Setor Marista, CEP 74150-220, Goiânia, GO, Brasil.

Tel 55 62 4009-1928. E-mail: danielatannus@terra.com.br

Apoio financeiro: Este estudo recebeu apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Processo nº 475603/2007-9.

Recebido para publicação em 22/10/2009. Aprovado, após revisão, em 19/1/2010.

na imunidade, como coinfeções (por ex., HIV), comorbidades (por ex., diabetes mellitus), idade, uso de imunossupressores e nível nutricional, propiciam o adoecimento. A artrite reumatoide (AR) é uma comorbidade que vem recebendo destaque na última década. Nesse período, foram introduzidos agentes biológicos, também denominados novas drogas modificadoras do curso da doença. Entre os agentes biológicos disponíveis no Brasil estão os bloqueadores de TNF (anti-TNF). Desde o início do seu uso, casos de tuberculose pulmonar e extrapulmonar vêm sendo notificados em pacientes recebendo a medicação.⁽⁴⁾ O objetivo do presente artigo é discutir o diagnóstico de tuberculose latente no paciente com AR, o que possibilita a correta indicação de tratamento da infecção latente antes da utilização do anti-TNF, reduzindo assim a incidência de tuberculose ativa nessa população.

Caso clínico

Paciente do sexo feminino, 41 anos, do lar, natural e procedente de Piracanjuba (GO). Tinha diagnóstico prévio de hipertensão arterial, estando em uso de enalapril há vários anos, assim como diagnóstico de AR há mais de 10 anos. Nesse período, utilizou vários esquemas terapêuticos para AR. Vinha em uso de prednisona (5 mg/dia) e metotrexato e, como mantinha muitos sintomas articulares, foi prescrito adalimumabe. Após dois meses do início de adalimumabe, começou a apresentar febre baixa quase diária, tosse seca e astenia discretas. Procurou atendimento médico em um pronto atendimento de Goiânia e recebeu o diagnóstico de pneumonia após a realização de radiografia de tórax (Figura 1). Utilizou azitromicina, 500 mg, por cinco dias conforme prescrição médica.

Apresentou discreta melhora na primeira semana, mas, a seguir, voltou a apresentar tosse seca e febre. Após dois meses, como mantinha o mesmo quadro clínico, voltou a procurar atendimento, ocasião em que recebeu a prescrição de levofloxacina, 500 mg/dia por 10 dias. Novamente apresentou discreta melhora inicial nos primeiros dez dias, com reinício dos sintomas após esse período.

Negava tabagismo e etilismo. A paciente informou ter realizado prova tuberculínica (PT), cujo resultado foi não reator, antes do início do uso de adalimumabe, e que a radiografia

de tórax naquela ocasião era normal segundo o médico reumatologista que a acompanhava. Após o uso de azitromicina (há três meses e meio) ainda recebeu mais uma infusão de adalimumabe. Ao exame físico, apresentava-se discretamente hipocorada, sem adenomegalias palpáveis. Presença de estertores finos em terço superior de hemitórax esquerdo e estertores grossos em terço médio de hemitórax direito, além de roncos esparsos. Deformidades articulares em mãos e pés. A radiografia de tórax demonstrava opacidades alveolares no lobo superior esquerdo, lobo inferior esquerdo e lobo médio, além de imagens sugestivas de disseminação broncogênica (Figura 2). A TC de tórax demonstrava opacidades centrolobulares com aspecto de árvore em brotamento (Figura 3).

Uma nova PT foi realizada e continuou não reatora (0 mm). A baciloscopia de escarro (coloração de Ziehl-Neelsen) foi negativa em duas amostras consecutivas. Foi submetida à broncoscopia, que demonstrou lesão infiltrativa esbranquiçada ocluindo 50% da luz do brônquio do lobo superior esquerdo com intensa reação inflamatória adjacente. O exame anatomopatológico da lesão brônquica revelou extensa reação inflamatória crônica granulomatosa com necrose coagulativa. Ausência de sinais de malignidade. A pesquisa de BAAR foi positiva no lavado broncoalveolar. Recebeu o diagnóstico de tuberculose pulmonar, e instituiu-se tratamento com esquema I (rifampicina/isoniazida/pirazina-mida). A paciente evoluiu bem, com melhora dos sintomas e do aspecto radiológico após 30 dias. Recebeu alta após seis meses de tratamento, com resolução total dos sintomas respiratórios e importante melhora da radiografia de tórax (Figura 4).

A resposta inflamatória na AR e na tuberculose

A AR é uma doença inflamatória crônica, autoimune, de etiologia desconhecida e que afeta todos os grupos étnicos em todo o mundo. Mulheres são 2,5 vezes mais afetadas do que homens. O início da doença pode ocorrer em qualquer idade, mas o pico de incidência está entre a 4ª e 5ª décadas de vida. Caracteriza-se clinicamente por poliartrite periférica, simétrica, que leva a deformidade e destruição das articulações em virtude da erosão óssea e da cartilagem. Punhos, dedos, joelhos e pés são

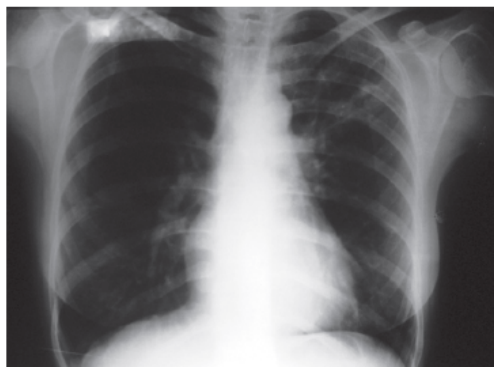


Figura 1 - Radiografia de tórax revelando opacidade alveolar com aparente cavitação no lobo superior esquerdo.

mais comumente comprometidos. Podem ainda ocorrer sintomas constitucionais não específicos, como fadiga, sono não reparador e perda de peso.⁽⁵⁻⁷⁾ As principais alterações da membrana sinovial desses pacientes são hiperplasia; alterações vasculares, que incluem injúria microvascular, trombose e neovascularização; edema; e infiltrado celular inflamatório composto principalmente por células T CD4+. As células T CD4+ antígeno ativadas estimulam monócitos, macrófagos e fibroblastos sinoviais a produzirem citocinas IL-1, IL-6 e TNF- α , assim como a secretar metaloproteinases, através de sinalizadores de superfície CD69 e CD11 e através da liberação de mediadores solúveis, como IFN- γ e IL-17. Além disso, as células T CD4+ ativadas estimulam células B a produzirem imunoglobu-



Figura 2 - Radiografia de tórax revelando opacidades alveolares no lobo superior esquerdo, e bilateralmente nas bases, além de imagens sugestivas de disseminação broncogênica no terço médio do hemitórax esquerdo.

linas, incluindo o fator reumatoide. As principais citocinas responsáveis pela inflamação na AR são IL-1, IL-6 e TNF- α . A IL-1 e o TNF- α estimulam as células da membrana sinovial a produzir colagenases e outras proteases, ativam condrócitos, estimulando-os a produzir enzimas proteolíticas que podem degradar a cartilagem localmente. Finalmente, a IL-1 e o TNF- α podem contribuir para a desmineralização local pela ativação de osteoclastos.^(5,8) Como uma citocina inflamatória, o TNF- α tem um importante, e talvez dominante, papel na sinovite reumatoide. Em um estudo com culturas de células sinoviais de pacientes com AR, o bloqueio do TNF- α com anticorpos reduziu significativamente a produção de IL-1, IL-6, IL-8 e GM-CSF. Assim, provavelmente, o bloqueio do TNF- α tem um efeito mais global na inflamação do que o bloqueio de outras citocinas presentes em altas concentrações no líquido sinovial, como IL-1.⁽⁸⁾ O tratamento da AR inclui medicações sintomáticas para o controle da dor: anti-inflamatórios não hormonais, glicocorticoides e drogas modificadoras do curso da doença, como a hidroxicloroquina, sulfassalazina, metotrexato, leflunomida, azatioprina e ciclosporina. Nos pacientes que persistem com sintomas articulares importantes, apesar do uso de combinações dessas drogas, estão indicados os agentes biológicos, entre eles, os anti-TNF.⁽⁶⁾

Por outro lado, a efetividade da resposta imune celular na tuberculose depende, em parte, da habilidade de produzir um perfil apropriado de citocinas, incluindo o TNF- α . O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória com importante papel na patogênese da tuberculose, pois está envolvido no aumento da capacidade dos macrófagos de fagocitar e destruir as micobactérias. Além disso, a produção e a liberação de TNF- α são essenciais para a formação dos granulomas que sequestram as micobactérias e previnem a sua disseminação.⁽⁴⁾

Bloqueadores do TNF- α e tuberculose

Drogas que inibem o TNF- α vêm sendo desenvolvidas e utilizadas em pacientes com AR para neutralizar os efeitos deletérios dessa citocina inflamatória. Até o momento, estão disponíveis três drogas para os pacientes que são refratários aos tratamentos convencionais da AR, inclusive ao metotrexato: dois anticorpos mono-humanizados — infliximabe e adalimu-



Figura 3 – TC de tórax revelando opacidades centrolobulares com aspecto de árvore em brotamento, predominando nas porções superiores do pulmão esquerdo.

mabe – e uma proteína de fusão composta por duas unidades p75 do TNF hibridizadas à porção Fc de IgG1 humana, que age como inibidor competitivo do TNF – etanercepte.⁽⁹⁾ Esses três agentes têm-se mostrado efetivos e seguros em pacientes com doença inicial ou estabelecida, melhorando a qualidade de vida e minimizando a progressão dos danos radiográficos.^(10,11) No entanto, desde o início de seu uso, centenas de casos de tuberculose pulmonar e extrapulmonar já foram notificados em pacientes usando anti-TNF- α . Em um levantamento de todos os casos notificados ao *Food and Drug Administration* até maio de 2001, observou-se



Figura 4 – Radiografia de tórax após o término do esquema I de tratamento da tuberculose, demonstrando importante melhora.

que, dentre os 147.000 pacientes que estavam usando infliximabe, foram notificados 70 casos de tuberculose, dentre os quais 40 eram casos de tuberculose extrapulmonar. Na maior parte dos casos (98%), a tuberculose se desenvolveu durante as seis primeiras infusões.⁽¹²⁾ Outros estudos demonstraram uma incidência aumentada de tuberculose em pacientes usando outros anti-TNF.⁽¹³⁾ Assim, pacientes em uso de agentes anti-TNF devem ser considerados de risco para a progressão de tuberculose ativa recentemente adquirida ou para a reativação da infecção remotamente adquirida.⁽⁴⁾

A infecção latente

Todo paciente candidato a receber um anti-TNF deveria ser avaliado para tuberculose latente antes do início de seu uso.^(3,4,6,7,14) O diagnóstico de tuberculose latente é um desafio. Não é possível detectar diretamente a presença de micobactérias latentes no organismo. Os pacientes, em geral, não têm queixas clínicas ou anormalidades radiológicas. Segundo as III Diretrizes para Tuberculose da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, pacientes candidatos ao uso de anti-TNFs com PT ≥ 5 mm deveriam receber tratamento para a infecção latente, com isoniazida na dose de 5–10 mg/kg de peso até 300 mg/dia por seis meses, só devendo ser iniciado o uso de anti-TNF após pelo menos um mês de tratamento.⁽³⁾ Os pacientes com PT negativa, mas com passado de tuberculose sem tratamento adequado ou radiografia de tórax sugestiva de seqüela de tuberculose também seriam candidatos a receber o tratamento para tuberculose latente.^(14,15)

Um grande complicador para o diagnóstico de tuberculose latente em portadores de AR é a anormalidade da função imune celular observada nesses doentes. Pacientes com AR apresentariam uma incapacidade de produção de resposta adequada à PT mesmo se infectados pelo *M. tuberculosis*.⁽¹⁶⁾

A PT é o exame que há mais tempo vem sendo utilizado com o objetivo de diagnosticar tuberculose latente. Baseia-se na reação celular (acúmulo de células inflamatórias) desenvolvida na pele 24–72 h após a inoculação intradérmica de PPD (mistura de proteínas de baixo peso molecular).⁽¹⁷⁾ A PT, o único teste disponível para

Quadro 1 – Estudos comparando pacientes com artrite reumatoide e controles em relação ao resultado positivo na prova tuberculínica.

Estudo	Pacientes com AR	Controles	Pacientes com AR e PT positiva	Controles com PT positiva
(local)	n	n	%	%
Ponce de Leon et al. ⁽¹⁸⁾ (Lima, Peru)	112	96	29,4	70,8
Provenzano et al. ⁽¹⁵⁾ (Palermo, Itália)	69		8,7 ^a	
Marques et al. ⁽²¹⁾ (Pernambuco, Brasil)	48	48	14,6 ^a	33,3
Greenberg et al. ⁽²⁰⁾ (Nova York, EUA)	61	42	21,3	11,9
Sezer et al. ⁽¹⁹⁾ (Antalya, Turquia)	58	69		39
	35 ^b /23 ^c		20 ^b /31 ^c	

AR: artrite reumatoide; e PT: prova tuberculínica. ^aDiagnóstico total de tuberculose latente em 24,6% (história prévia de tuberculose ou PT > 5 mm ou radiografia consistente com tuberculose prévia: nódulo calcificado, fibrose apical ou espessamento pleural). ^bPacientes sem tratamento prévio para AR. ^cPacientes já tratados para AR, candidatos ao uso de anti-TNF.

a detecção de tuberculose latente por quase um século, apresenta uma série de limitações, algumas de natureza operacional (técnica de injeção e de leitura, necessidade de duas visitas ao laboratório) e algumas de natureza imunológica (efeito *booster*, baixa especificidade em indivíduos previamente vacinados com BCG, reação cruzada com outras micobactérias e baixa sensibilidade em pacientes imunossuprimidos).

Em um estudo realizado em Lima, Peru, que incluiu 112 pacientes com AR e 96 controles, observou-se PT negativa em 70,6% dos indivíduos com AR contra 26% dos controles. Todos os pacientes utilizavam doses de prednisona inferiores a 7,5 mg/dia, reconhecidamente como não tendo um efeito imunossupressor.⁽¹⁸⁾

Mais recentemente, em um estudo com 149 indivíduos (35 pacientes com AR não previamente tratados, 23 pacientes com AR, 22 pacientes com espondilite anquilosante em uso de drogas imunossupressoras e candidatos ao uso de agentes biológicos e 69 indivíduos saudáveis), observaram-se valores de PT significativamente menores em pacientes com AR não tratados do que nos pacientes com AR em uso de drogas com ação imunossupressora, pacientes com espondilite anquilosante e controles, sugerindo um efeito direto da AR sobre o resultado da PT.⁽¹⁹⁾

Em estudo realizado na Itália, que incluiu 69 pacientes com AR, 10 com espondilite anquilosante e 6 com artrite psoriásica, observou-se PT positiva em 8,7% dos pacientes enquanto, no total, 24,6% dos pacientes tiveram diagnóstico de tuberculose latente com base na história prévia de tuberculose, PT positiva ou lesões radiológicas consistentes com tuberculose sequelar. Os dados sugerem que a PT não é suficientemente sensível para diagnosticar tuberculose latente em pacientes com AR e outras espondiloartropatias.⁽¹⁵⁾

Em um estudo recente realizado em Pernambuco, Brasil, foram incluídos 96 indivíduos, sendo 48 pacientes com AR e 48 controles saudáveis, e observou-se resultado positivo para PT em 14,6% dos pacientes com AR (PT ≥ 5 mm) contra 33,3% no grupo controle (PT ≥ 10 mm).⁽²⁰⁾

Um resultado conflitante com os anteriores foi observado em um estudo realizado em Nova York, EUA. Considerando a PT positiva com induração ≥ 10 mm, 16,4% dos pacientes com AR foram positivos contra 11,9% dos controles. Utilizando um ponto de corte de 5 mm para a PT nos pacientes com AR, 21,3% foram positivos.⁽²¹⁾

Vale ainda comentar o estudo no qual se baseou o uso de tratamento da tuberculose latente para pacientes que receberiam anti-TNF

somente no resultado da PT, com 4 casos de tuberculose ativa entre os 43 pacientes incluídos.⁽²²⁾

Com exceção do estudo realizado em Nova York, os outros estudos descritos mostram uma significativa menor porcentagem de pacientes com AR e resultado positivo para PT (mesmo considerando-se como resultado positivo PT ≥ 5 mm) do que entre controles saudáveis, sugerindo, então, uma menor habilidade da PT em identificar tuberculose latente nesse grupo de pacientes (Quadro 1).

Novos testes para o diagnóstico de tuberculose latente

O desenvolvimento de testes alternativos para o diagnóstico de tuberculose latente tem sido alvo de inúmeras pesquisas. A identificação de regiões do genoma do *M. tuberculosis* que estão ausentes no BCG e em micobactérias ambientais permitiu o desenvolvimento de novas ferramentas diagnósticas. Duas proteínas codificadas pela região de diferença 1 (CPF-10 e ESAT-6), que é deletada durante a transformação do *M. bovis* para a produção de BCG, são utilizadas como antígenos específicos. Essas proteínas induzem uma forte resposta imune das células T em modelos experimentais, levando à produção de IFN- γ , que é quantificado pelos testes.⁽²³⁾ Duas formas comerciais de testes que quantificam IFN- γ vêm sendo utilizadas em estudos. A primeira utiliza tecnologia de ELISA e mede a concentração de IFN- γ liberada após a incubação do sangue total com o antígeno específico (QuantiFERON® - Tb Gold; Cellestis Inc., Valencia, CA, EUA). A outra técnica emprega o ensaio *enzyme-linked immunospot* (ELISPOT) utilizando células mononucleares periféricas produtoras de IFN- γ em resposta à estimulação com os antígenos específicos (T-SPOT.TB®; Oxford Immunotec, Abingdon, Reino Unido).

O método baseado em ELISA apresenta elevada especificidade em indivíduos saudáveis vacinados com BCG (acima de 98% vs. 35,4% na PT).⁽²⁴⁾ Estudos de correlação entre o método ELISA e a PT mostram resultados bastante diferentes em locais onde a tuberculose é endêmica ou não. Esses resultados podem ser influenciados pela baixa especificidade da PT em populações vacinadas com BCG e pelos

resultados falso-negativos com o método ELISA, pois os antígenos utilizados no exame não são os únicos responsáveis pela antigenicidade de *M. tuberculosis*.⁽²⁵⁾

A aplicação do método ELISA para o diagnóstico de tuberculose latente em pacientes com AR vem sendo alvo de vários estudos nos últimos 3 anos. Em um estudo realizado em uma população em Lima, Peru, onde a tuberculose é endêmica, (prevalência de tuberculose latente estimada de 68%), comparou-se o uso da PT e o método ELISA entre 101 pacientes com AR e 93 controles (pacientes com doenças reumatológicas não inflamatórias). A PT foi considerada positiva se ≥ 5 mm em pacientes com AR e ≥ 10 mm nos controles. O número de pacientes com resultados positivos no método ELISA foi comparável entre os grupos AR e controle (44,6% e 59,1%, respectivamente), enquanto a PT detectou significativamente menos tuberculose latente em pacientes com AR (26,7% vs. 65,6% nos controles).⁽²⁶⁾

Em um estudo realizado em uma população de baixa endemicidade para tuberculose, com 142 pacientes com doenças reumatológicas (57 com espondiloartropatias, 40 com AR e 45 com outras doenças), observou-se baixa concordância entre os resultados da PT e da dosagem de IFN- γ . O resultado positivo no método ELISA associou-se fortemente à presença de fatores de risco para tuberculose latente e menos à vacinação com BCG do que o resultado na PT (OR = 0,74; IC95%: 0,15-1,47 vs. OR = 2,44; IC95%: 0,74-8,01; p = 0,025). A vacinação prévia com BCG afetou os resultados da PT, mas não aqueles do método ELISA.⁽²⁷⁾

Em um estudo com 398 pacientes com doenças autoimunes em Roma, na Itália, observou-se boa concordância entre a PT e o método ELISA (87,7%). Tratava-se de uma população de baixa endemicidade para a tuberculose, e apenas 4% dos pacientes estudados eram vacinados com BCG.⁽²⁸⁾

O outro método de quantificação do IFN- γ , ELISPOT, também vem sendo estudado em pacientes com AR. Em um estudo realizado na França em pacientes com doença autoimune, durante a investigação de tuberculose latente antes da utilização de agentes anti-TNF- α , classificaram-se 68 pacientes entre portadores

de tuberculose latente ($n = 35$) e não portadores ($n = 33$), de acordo com critérios clínico-radio-gráficos e PT positiva se a induração ≥ 10 mm. Após realizar ELISPOT com antígenos específicos para tuberculose, observaram-se mais resultados positivos no grupo classificado como tendo tuberculose latente ($p = 0,05$). Entre os 13 pacientes com tuberculose latente independente da PT, 38,5% tinham PT negativa e 15,4% tinham ELISPOT negativo, demonstrando uma maior sensibilidade do ELISPOT em relação à PT.⁽²⁹⁾

Em um recente estudo no estado de Pernambuco, realizou-se ELISPOT e PT em 48 pacientes com AR e 49 controles saudáveis. Dos pacientes com AR, 25% apresentaram resultados positivos no ELISPOT, enquanto 14% tinham PT positiva. No grupo controle, 35% tinham PT positiva e 18% eram positivos ao ELISPOT. Utilizando diferentes modelos para a identificação de tuberculose latente (PT positiva; PT positiva e anormalidade na radiografia de tórax; PT positiva e contato intradomiciliar com tuberculose ativa; PT positiva e alteração radiológica; e contato intradomiciliar com tuberculose ativa), observou-se alta especificidade e alto valor preditivo negativo no grupo AR, sugerindo que, nessa amostra, o ELISPOT foi mais útil em identificar resultados falso-negativos na PT (12 resultados positivos no ELISPOT vs. 7 resultados positivos na PT). Demonstrou-se ainda a habilidade do ELISPOT em confirmar, com alto grau de certeza, que, nos casos de PT negativa, a tuberculose latente está realmente ausente. Os autores concluem que, para os pacientes com AR nessa população, a PT positiva dispensa a confirmação com ELISPOT e que o tratamento da tuberculose latente deveria ser indicado. Já entre os casos de PT negativa e com anormalidade na radiografia de tórax ou naqueles com contato intradomiciliar com tuberculose ativa, o ELISPOT poderia ser realizado para identificar resultados falso-negativos.⁽³⁰⁾

Considerações finais

Em resumo, ainda são poucos os estudos com testes de quantificação de IFN- γ no grupo específico de pacientes com AR. Além disso, os resultados variam bastante se considerarmos populações com diferentes prevalências de

tuberculose latente. Uma grande dificuldade em se avaliar a performance desses testes é a falta de um padrão ouro para identificar os casos verdadeiros de tuberculose latente, o que torna difícil a comparação de resultados entre estudos que utilizam diferentes definições. Outra dificuldade é a falta de padronização do ponto de corte para a PT nos estudos, alguns autores utilizando 5 mm e outros utilizando 10 mm para definir resultados positivos.

No caso relatado, foi realizada pesquisa para tuberculose latente conforme as orientações brasileiras atuais, com o levantamento da história de contatos anteriores e realização de radiografia de tórax e de PT. Este caso ilustra a possibilidade dos pacientes com AR apresentarem tuberculose ativa após o uso de bloqueadores do TNF mesmo sem infecção latente identificada pelos métodos utilizados atualmente no Brasil. Demonstra ainda a demora do diagnóstico correto de tuberculose, situação comum mesmo em um país com alta incidência da doença. Chama a atenção, então, para a necessidade de se estabelecer novas ferramentas de diagnóstico e de manejo nesse grupo de pacientes e, principalmente, a necessidade de acompanhamento do paciente após o início da medicação quanto ao surgimento de sintomas sugestivos de tuberculose ativa.

Referências

1. World Health Organization [homepage on the Internet]. Geneva: World Health Organization Global [cited 2009 Sep 5]. Global Tuberculosis Control - A short update to the 2009 report. Available from: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en
2. DATASUS [homepage on the Internet]. Brasília: Ministério da Saúde [cited 2009 Sep 5]. TUBERCULOSE - Casos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net. Available from: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinanet/tuberculose/bases/tubercbrnet.def>
3. Conde MB, de Melo FA, Marques AM, Cardoso NC, Pinheiro VG, Dalcin Pde T, et al. III Brazilian Thoracic Association Guidelines on tuberculosis. J Bras Pneumol. 2009;35(10):1018-48.
4. Gardam MA, Keystone EC, Menzies R, Mannes S, Skamene E, Long R, et al. Anti-tumour necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanisms of action and clinical management. Lancet Infect Dis. 2003;3(3):148-55.
5. Lipski PE. Artrite reumatóide. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al, editors. Harrison: Princípios de Medicina Interna. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; 2006. p. 2064-73.

6. Bértolo MB, Brenol CV, Schainberg CG, Neubarth F, Lima FAC, Laurindo IM, et al. Atualização do consenso brasileiro no diagnóstico e tratamento da artrite reumatóide. *Rev Bras Reumatol.* 2007;47(3):151-9.
7. American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis: 2002 Update. *Arthritis Rheum.* 2002;46(2):328-46.
8. Choy EH, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2001;344(12):907-16.
9. Toussiot E, Wendling D. The use of TNF-alpha blocking agents in rheumatoid arthritis: an update. *Expert Opin Pharmacother.* 2007;8(13):2089-107.
10. Moreland LW, Schiff MH, Baumgartner SW, Tindall EA, Fleischmann RM, Bulpitt KJ, et al. Etanercept therapy in rheumatoid arthritis. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 1999;130(6):478-86.
11. Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Kalden JR, Antoni C, Smolen JS, et al. Randomised double-blind comparison of chimeric monoclonal antibody to tumour necrosis factor alpha (cA2) versus placebo in rheumatoid arthritis. *Lancet.* 1994;344(8930):1105-10.
12. Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwieterman WD, et al. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med.* 2001;345(15):1098-104.
13. Wallis WJ, Burge DJ, Sabath D, Gardiner M. Tuberculosis reports with etanercept (Enbrel) therapy [abstract]. *Arthritis Rheum.* 2001;44 Suppl 9:S78.
14. British Thoracic Society Standards of Care Committee. BTS recommendations for assessing risk and for managing *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease in patients due to start anti-TNF-alpha treatment. *Thorax.* 2005;60(10):800-5.
15. Provenzano G, Ferrante MC, Simon G. TB screening and anti-TNF alpha treatment. *Thorax.* 2005;60(7):613.
16. Sezer I, Kocabas H, Melikoglu MA, Arman M. Positiveness of purified protein derivatives in rheumatoid arthritis patients who are not receiving immunosuppressive therapy. *Clin Rheumatol.* 2009;28(1):53-7.
17. Teixeira HC, Abramo C, Munk ME. Immunological diagnosis of tuberculosis: problems and strategies for success. *J Bras Pneumol.* 2007;33(3):323-34.
18. Ponce de León D, Acevedo-Vásquez E, Sánchez-Torres A, Cucho M, Alfaro J, Perich R, et al. Attenuated response to purified protein derivative in patients with rheumatoid arthritis: study in a population with a high prevalence of tuberculosis. *Ann Rheum Dis.* 2005;64(9):1360-1.
19. Sezer I, Kocabas H, Melikoglu MA, Arman M. Positiveness of purified protein derivatives in rheumatoid arthritis patients who are not receiving immunosuppressive therapy. *Clin Rheumatol.* 2009;28(1):53-7.
20. Marques CD, Duarte AL, Lorena VM, Souza JR, Souza W, Gomes YM, et al. Resposta atenuada ao PPD no diagnóstico de infecção tuberculosa latente em pacientes com artrite reumatóide. *Rev Bras Reumatol.* 2009;49(2):121-5.
21. Greenberg JD, Reddy SM, Schloss SG, Kurucz OS, Bartlett SJ, Abramson SB, et al. Comparison of an in vitro tuberculosis interferon-gamma assay with delayed-type hypersensitivity testing for detection of latent *Mycobacterium tuberculosis*: a pilot study in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2008;35(5):770-5. Erratum in: *J Rheumatol.* 2008;35(5):943.
22. Chen DY, Shen GH, Hsieh TY, Hsieh CW, Lan JL. Effectiveness of the combination of a whole-blood interferon-gamma assay and the tuberculin skin test in detecting latent tuberculosis infection in rheumatoid arthritis patients receiving adalimumab therapy. *Arthritis Rheum.* 2008;59(6):800-6.
23. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet.* 2000;356(9235):1099-104.
24. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170(1):59-64.
25. Kang YA, Lee HW, Yoon HI, Cho B, Han SK, Shim YS, 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):2756-61.
26. Ponce de Leon D, Acevedo-Vasquez E, Alvizuri S, Gutierrez C, Cucho M, Alfaro J, et al. Comparison of an interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detection of tuberculosis (TB) infection in patients with rheumatoid arthritis in a TB-endemic population. *J Rheumatol.* 2008;35(5):776-81.
27. Matulis G, Jüni P, Villiger PM, Gadola SD. Detection of latent tuberculosis in immunosuppressed patients with autoimmune diseases: performance of a *Mycobacterium tuberculosis* antigen-specific interferon gamma assay. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(1):84-90.
28. Bartalesi F, Vicidomini S, Goletti D, Fiorelli C, Fiori G, Melchiorre D, et al. QuantiFERON-TB Gold and the TST are both useful for latent tuberculosis infection screening in autoimmune diseases. *Eur Respir J.* 2009;33(3):586-93.
29. Sellam J, Hamdi H, Roy C, Baron G, Lemann M, Puéchal X, et al. Comparison of in vitro-specific blood tests with tuberculin skin test for diagnosis of latent tuberculosis before anti-TNF therapy. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(12):1610-5.
30. Marques CD, Duarte AL, de Lorena VM, Souza JR, Souza WV, de Miranda Gomes Y, et al. Evaluation of an interferon gamma assay in the diagnosis of latent tuberculosis infection in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2009. Epub 2009 Apr 11.

Sobre os autores

Daniela Graner Schwartz Tannus Silva

Médica Pneumologista. Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia (GO) Brasil.

Bruna Daniella de Souza Silva

Mestranda em Medicina Tropical. Universidade Federal de Goiás, Goiânia (GO) Brasil.

Ana Paula Junqueira-Kipnis

Professora Adjunta. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia (GO) Brasil.

Marcelo Fouad Rabahi

Professor Adjunto. Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Goiás, Goiânia (GO) Brasil.

4 TEXTO DE LIGAÇÃO

No manuscrito já publicado apresentamos o caso de uma paciente com diagnóstico de artrite reumatoide, que iniciou o uso de adalimumabe após adequada investigação de TBIL, conforme recomendações brasileiras atuais, e desenvolveu quadro de tuberculose pulmonar. No mesmo manuscrito, realizamos uma revisão da utilização da PT e dos novos testes diagnósticos para TBIL na artrite reumatoide. Ficou claro que este ainda é um importante campo de pesquisa, em que o papel de cada teste não está bem definido. Novas pesquisas são necessárias em populações com diferentes incidências de tuberculose, com o intuito de se avaliar o papel de cada exame nesse grupo específico de pacientes. Uma vez que ainda não existe um teste ou estratégia diagnóstica considerada padrão ouro para o diagnóstico de TBIL, torna-se também importante o estudo da aplicação de exames já existentes em novas estratégias diagnósticas. No manuscrito a seguir apresentamos estudo realizado entre pacientes com artrite reumatoide do ambulatório de Reumatologia do HC-UFG, em que avaliamos a utilização da PT e do T-SPOT-TB no diagnóstico de TBIL; avaliamos ainda a performance da dosagem de IFN- α através de citometria de fluxo após estímulo com Hsp α e finalmente a utilização da tomografia computadorizada de alta resolução como possível ferramenta diagnóstica.

Artigo 2

TÍTULO: Tuberculose latente em pacientes com artrite reumatoide. Avaliação da resposta celular e novas estratégias diagnósticas.

AUTORES: Daniela Graner Schuwartz Tannus Silva, Bruna Daniella de Souza Silva, Pedro Paulo Teixeira e Silva Torres, Pedro José de Santana Junior, Ana Paula Junqueira-Kipnis, Marcelo Fouad Rabahi.

RESUMO

INTRODUÇÃO: O diagnóstico de tuberculose latente (TBIL) em pacientes com artrite reumatoide (AR) ganhou especial importância com o advento do uso dos agentes anti necrose tumoral (anti-TNF- α) e o surgimento de casos de tuberculose ativa nesses pacientes. A prova tuberculínica (PT), teste utilizado há mais de um século no diagnóstico de TBIL, apresenta valor limitado entre os pacientes com AR. Novos exames, que se baseiam na produção e liberação de interferon-gamma (IFN- γ), vêm sendo estudados mas ainda não têm seu papel bem estabelecido neste grupo de pacientes. **OBJETIVOS:** Comparar o diagnóstico de TBIL em um grupo de pacientes com AR através da resposta imune celular frente à prova tuberculínica, T.SPOT-TB e medida da produção de IFN- γ através da citometria de fluxo após estímulo com Hsp α e através de alterações tomográficas compatíveis com TBIL. **MÉTODOS:** Avaliação clínico-epidemiológica, realização de PT, T.SPOT-TB, citometria de fluxo e tomografia computadorizada de alta resolução (TCAR) em um grupo de pacientes com AR do ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas - UFG. **RESULTADOS:** A resposta à PT foi menor nos pacientes com AR (13,5%) do que a resposta esperada para população geral. O T.SPOT-TB identificou um maior número de pacientes com TBIL em relação à PT (36,8%). A produção de IFN- γ em resposta ao Hsp α não foi estatisticamente diferente entre os grupos considerados como TBIL (PT e/ou T.SPOT-TB positivos) ou NÃO TBIL (PT e T.SPOT-TB negativos). A TCAR apresentou alterações compatíveis com TBIL em 52,9% dos pacientes estudados, inclusive entre oito dos onze pacientes com PT e T.SPOT-TB negativos. **CONCLUSÕES:** A PT isoladamente é insuficiente para o diagnóstico de TBIL. O T.SPOT TB apresentou maior número de resultados positivos em relação à PT mas foi negativo em grande porcentagem de pacientes com alterações tomográficas bastante sugestivas de TBIL. A TCAR é um exame acessível na maior parte dos grandes centros e deve ser incorporada na estratégia diagnóstica de TBIL em pacientes com AR.

**TITLE: Latent tuberculosis in rheumatoid arthritis patients.
Assessment of cellular response and new diagnostic strategies**

ABSTRACT

BACKGROUND: The diagnosis of latent tuberculosis (TBIL) in patients with rheumatoid arthritis (RA) has gained special importance with the advent of the use of anti tumor necrosis factor (anti-TNF- α) and the emergence of cases of active tuberculosis in these patients. Tuberculin skin test (TST) has been used for more than a century in the diagnosis of TBIL but has limited value in patients with RA. New tests that are based on the production and release of interferon-gamma (IFN- γ) have been studied but its role has not yet well established in this group of patients. **OBJECTIVES:** To compare the diagnostic TBIL in a group of patients with RA through the cellular immune response using the TST, T.SPOT-TB and the production of IFN- γ measured by flow cytometry after stimulation with Hsp α and through CT changes compatible with TBIL. **METHODS:** Performance of clinical and epidemiological, TST, T.SPOT-TB, flow cytometry and high resolution computed tomography (HRCT) in a group of RA patients from rheumatology outpatient clinic of the Hospital das Clínicas - UFG. **RESULTS:** The response to TST was lower in RA patients (13.5%) than the expected response to the general population. The T.SPOT-TB identified a larger number of patients with TBIL compared to TST (36.8%). The production of IFN- γ in response to Hsp α was not statistically different among the groups considered TBIL (PT and / or T.SPOT-positive TB) or NO TBIL (PT and T.SPOT-negative TB). HRCT showed changes consistent with TBIL in 52.9% of patients, even among eight of the eleven patients with PT and T.SPOT-TB negatives. **CONCLUSION:** PT alone is not adequate for diagnosing TBIL. The T SPOT TB showed a higher number of positive results compared to PT but was negative in a large percentage of patients with CT changes highly suggestive of TBIL. HRCT is accessible in most major centers and should be incorporated in the diagnostic strategy of TBIL in patients with RA.

Introdução

A tuberculose (TB) continua sendo um problema mundial de saúde pública, que afeta predominantemente a faixa economicamente ativa da população. O Brasil está entre os 22 países responsáveis por 90% dos casos de TB no mundo. Nosso país possui cerca de 50 milhões de infectados, com aproximadamente 85 mil casos novos notificados a cada ano (1,2). Apesar do diagnóstico e tratamento da tuberculose ativa ser a principal prioridade dos programas de tuberculose em países com alta incidência da doença, a tuberculose latente (TBIL) assume grande importância em pacientes com maior risco de evoluir para forma ativa da doença, como os pacientes com artrite reumatoide (AR) candidatos ao uso de antagonistas do fator de necrose tumoral- α (anti-TNF- α).

Desde o início do uso dos anti-TNF- α tornou-se crítico o screening de TBIL nos pacientes candidatos ao seu uso. Apesar do grande número de estudos com esse objetivo desde então, ainda não está claro qual a melhor abordagem. Vários países publicaram diretrizes através de suas Sociedades de especialidades que incluem, na maioria das vezes, história de contato com tuberculose ativa, resultado da prova tuberculínica (PT) e radiografia de tórax (3,4). Com o surgimento de novos testes para o diagnóstico de TBIL, estudos recentes vêm tentando estabelecer seu papel na AR, mas mesmo para um teste tão antigo como é a prova tuberculínica, seu real valor na AR ainda não está totalmente esclarecido.

Sabendo-se que a PT não parece ser o teste ideal para diagnóstico de TBIL em pacientes com AR (5,6), torna-se importante a avaliação de novas estratégias diagnósticas. O objetivo do presente estudo foi avaliar e comparar a performance de testes que avaliam a resposta imune celular: PT, T.SPOT-TB, produção de interferon-gamma (IFN- γ) após estímulo com Hsp α (proteína α -cristalina 16-kDa) e ainda o papel da tomografia computadorizada de alta resolução de tórax (TCAR) no diagnóstico da TBIL em um grupo de pacientes com AR.

Materiais e métodos

Participantes

Este é um estudo transversal, em que foram incluídos 37 pacientes, aleatoriamente, do ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas – UFG. Para a inclusão, os pacientes precisavam ter diagnóstico de AR e mais de 18 anos de idade.

Foram critérios de exclusão: gravidez suspeita ou confirmada, sorologia positiva para HIV, não comparecimento para realização ou leitura da PT e história de diagnóstico ou tratamento de TB no passado. Entre dezembro de 2008 e dezembro de 2009, pacientes que compareciam em consulta regular ao ambulatório de artrite reumatoide, eram convidados a participar do estudo. Critérios diagnósticos da AR eram confirmados no prontuário. Muitos dos pacientes que preenchiam os critérios de inclusão, não foram incluídos por estarem participando de outros estudos clínicos.

Procedimentos

Foi obtida história médica de todos os 37 pacientes, incluindo diagnóstico prévio ou contato com tuberculose e história de vacinação com BCG. Realizado exame físico com documentação da presença de cicatriz vacinal. Medicações em uso e doses foram registradas. Foi realizada prova tuberculínica nos 37 pacientes. Em 19 pacientes foi coletado sangue para obtenção de PBMC (células mononucleares do sangue periférico) e realização de T.SPOT-TB e citometria de fluxo. Tomografia computadorizada de tórax de alta resolução (TCAR) foi realizada em 34 pacientes. Todos os pacientes assinaram consentimento informado antes de sua participação. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas – UFG (Protocolo 195/07).

Prova tuberculínica

Foram aplicados 100 µl (2UI) de PPD Rt 23 intradérmico na face anterior do antebraço. A leitura da induração foi realizada após 72h da aplicação com o método de palpação da induração perpendicular ao maior eixo do antebraço e o resultado foi expresso em mm. O mesmo profissional aplicou e fez a leitura de todos os exames. O exame foi considerado reator quando o diâmetro da induração foi ≥ 5 mm.

Citometria de fluxo

Células mononucleares do sangue periférico foram obtidas por gradiente de densidade após centrifugação com Ficoll-Paque Plus (GE Healthcare Bio-Sciences AB). As células foram lavadas duas vezes em salina e ressuspensas em meio RPMI 1640 (GIBCO, Invitrogen Corporation) suplementado com 2mM glutamina, 10nM piruvato, 2mM aminoácidos, 50µg mL⁻¹ penicilina, 50µg mL⁻¹ streptomina e 10%

soro humano inativado e distribuídas em placa de 96 poços após ajuste da celularidade para 2×10^5 cels/mL. As células foram então incubadas com Hspx (1µg/mL), anti-CD3 e solução Golgi stop (monensin - BD Bioscience Pharmingen) a 37°C, CO₂ (5%) por 6h. A seguir, as células foram tratadas com PBS/azida 0.05% por 20 minutos e centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos. Foram então incubadas com anti-CD4/APC (eBioscience) a 4°C por 18 minutos. As placas foram lavadas duas vezes com PBS/Azida 0,05% e tratadas com PermFix (BD Pharmingen, San Jose, USA) por 18 minutos. Para marcação intracelular, as células foram tratadas com Perm Wash buffer (BD Bioscience Pharmingen) e incubadas a 4°C por 18 minutos com anti-IFN- γ /FITC (BD Bioscience Pharmingen). As amostras foram analisadas em equipamento FACSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, USA) no Hospital Araújo Jorge (Goiânia-Goiás). Pelo menos 50.000 eventos foram adquiridos por amostra. Os dados foram analisados utilizando FACSDiva software (BD Biosciences Becton Dickinson).

T.SPOT[®]-TB (Oxford Immunotec).

Foi realizado conforme orientações do fabricante. Em resumo, após a obtenção do PBMC essas células são preparadas e incubadas com antígenos específicos para tuberculose em uma placa preparada com anticorpos anti-IFN- γ . Se há reconhecimento dos antígenos e produção de IFN- γ este é capturado pelos anticorpos e formam-se spots no fundo da placa. Os exames foram considerados reativos nas seguintes situações:

- nos casos em que o controle negativo tinha de 0 a 5 spots e a contagem de spots de um dos painéis menos a contagem de spots do controle negativo era ≥ 6
- nos casos em que o controle negativo tinha de 6 a 10 spots e a contagem de spots de um dos painéis era maior que duas vezes a contagem de spots do controle negativo.

Tomografia Computadorizada de alta resolução

Foram realizadas TCAR de 34 pacientes, em tomógrafo multislice – 6 canais - (Somatom Emotion 6, Siemens), conforme protocolo de alta resolução, com cortes axiais de 1 mm de espessura dos ápices até as cúpulas diafragmáticas, com espaçamento de 10 mm. Foi utilizado filtro de aguçamento de contornos e as imagens foram obtidas em níveis apropriados para janelas de pulmão, em matriz 512 x 512. Os exames foram avaliados por radiologista com experiência em análise de TC de tórax,

cego para a PT e outros resultados. Os pacientes foram classificados como tendo TCAR compatível com TBIL ou sem alterações sugestivas de TBIL. Para essa classificação foram consideradas as seguintes alterações (7):

- nódulos calcificados no parênquima pulmonar (nódulo de Ghon)
- linfonodos hilares calcificados
- espessamento pleural apical
- lesões fibróticas de lobos superiores com ou sem redução volumétrica do lobo

Análise estatística

Para comparação do resultado da PT e do T.SPOT-TB entre os pacientes vacinados e não vacinados com BCG foi realizado o teste exato de Fisher. Foi calculado o kappa para avaliar a concordância entre a PT e T.SPOT-TB. Para a análise dos resultados da citometria, a mediana e o desvio padrão bem como a amplitude de variação dentro de cada grupo foram calculados. Para calcular a diferença entre os resultados de cada grupo, o teste de Mann-Whitney-Wilcoxon foi utilizado. Valores de p inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. A tabulação e a construção do gráfico foi feita através do programa GraphPad Prism 5 Microsoft®.

Resultados

Trinta e sete pacientes (33 mulheres e 4 homens) foram incluídos e preenchiam os critérios diagnósticos de AR do Colégio Americano de Reumatologia (8) com média de idade de 55,4 anos (39-81 anos). O tempo de diagnóstico variou de 1 a 35 anos, com média de 11,3 anos. Apenas 3 pacientes não estavam em uso de corticóides. Os dados clínicos mais importantes estão descritos no quadro 1.

Quadro 1- Características clínicas dos 37 pacientes incluídos

Sexo feminino/masculino	33 /4 (89%/11%)
Idade média (min-max)	55,4 (39-81 anos)
Tempo de diagnóstico médio (min-max)	11,3 (1 a 35 anos)
Tabagistas atuais ou no passado	19 (51,3%)
Uso de corticóide em dose > 7,5mg prednisona ou equivalente	16 (43,2%)
Uso de droga modificadora do curso da doença (metotrexate / leflunomida ou azatioprina)	29 (78,3%)
Uso de corticóide em dose >7,5mg prednisona ou equivalente <u>ou</u> droga modificadora do curso da doença	34 (91,9%)
Vacinados com BCG	18 (48,6%)

Min: mínimo, Max: máximo, BCG: bacilo de Calmette-Guérin

A figura 1 esquematiza os procedimentos realizados. Todos os 37 pacientes incluídos realizaram prova tuberculínica. Destes, 13,5% foram reatores e 86,5% foram não reatores.

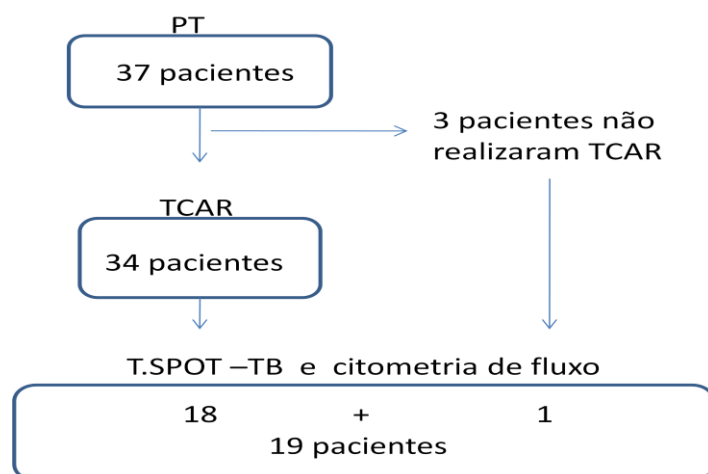


Figura 1- Procedimentos realizados nos 37 pacientes incluídos

PT: prova tuberculínica, TCAR: tomografia de tórax de alta resolução

Não houve diferença estatística na positividade à prova tuberculínica quando comparados os grupos de pacientes vacinados com BCG ou não vacinados ($p=0,3958$). Em três pacientes o status vacinal não pôde ser definido. Trata-se de pacientes que afirmavam ter recebido BCG, nos quais não foi constatada cicatriz vacinal (Tabela 1).

Tabela 1- Resultados da PT de acordo com o status vacinal

	PT positiva	PT negativa
Vacinados com BCG n=18	2 (11%)	16 (89%)
Não vacinados com BCG n=16	2 (12,5%)	14 (87,5%)
Vacinação indefinida n=3	1	2
Total de pacientes (n=37)	5 (13,5%)	32 (86,5%)

Não houve diferença estatística significativa no resultado da PT entre os grupos de pacientes vacinados e não vacinados

PT: prova tuberculínica, BCG: bacilo de Calmette-Guérin

Dezenove pacientes do grupo total, selecionados conforme disponibilidade dos kits, foram submetidos ao T.SPOT TB e citometria de fluxo. Destes, 36,8% foram reativos ao T.SPOT TB, enquanto 63,2% foram não reativos. Assim como para PT, não houve diferença estatística quando o grupo foi dividido entre vacinados ou não vacinados

($p=0,3779$). Estes resultados estão demonstrados na tabela 2. Os resultados da PT e T.SPOT TB foram concordantes em 14 pacientes (73,6%). Em 4 pacientes a PT foi negativa e o T.SPOT-TB reativo. Os dois exames apresentaram concordância razoável ($kappa = 0,379$).

Tabela 2- Resultados da PT e do T.SPOT-TB no grupo de pacientes que realizou os dois exames

	T.SPOT-TB positivo	T.SPOT-TB negativo	PT Positiva	PT negativa
Vacinados com BCG (n=10)	4 (40%)	6 (60%)	2 (20%)	8 (80%)
Não vacinados com BCG (n=7)	3 (42,8%)	4 (57,2%)	1 (14,3%)	6 (85,7)
Vacinação indefinida (n=2)	0	2	1	1
Total (n=19)	7 (36,8%)	12 (63,2%)	4 (21%)	15 (79%)

Não houve diferença estatística significativa na positividade da PT e do T.SPOT-TB quando comparados pacientes vacinados e não vacinados

PT: prova tuberculínica, BCG: bacilo de Calmette-Guérin

Entre os 37 pacientes do estudo, trinta e quatro pacientes realizaram TCAR e destes, 18 apresentavam alterações sugestivas de TBIL e 16 pacientes apresentavam TCAR normal ou com outras alterações não relacionadas à TBIL (como enfisema e doença intersticial relacionada à AR por exemplo). Entre os 5 pacientes com PT positiva, 4 apresentavam TCAR compatível com TBIL e um não. Dos 32 pacientes com PT negativa que realizaram TCAR, 14 pacientes apresentavam alterações sugestivas de TBIL (figura 2).

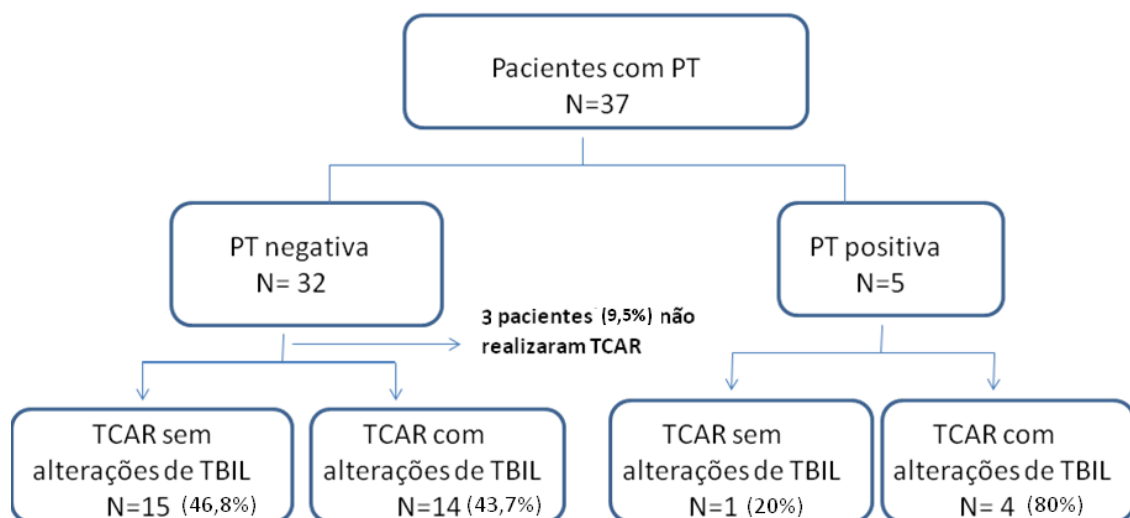


Figura 2- Distribuição dos pacientes que apresentavam ou não alterações compatíveis com TBIL de acordo com a resposta à prova tuberculínica.

Quando avaliado somente o grupo que realizou também T.SPOT-TB (n=19), entre os 11 pacientes com os dois exames negativos, oito apresentavam alterações de TBIL (figura 3). Alguns desses pacientes apresentavam lesões extensas sugestivas de TB prévia, provavelmente com resolução espontânea (quadro 2).

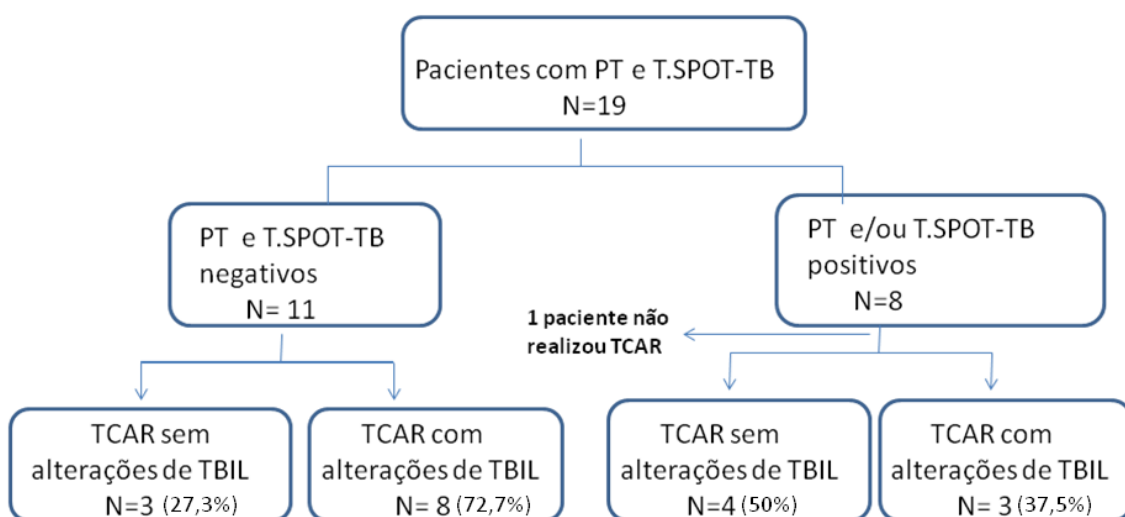


Figura 3– Distribuição dos pacientes que apresentavam ou não alterações compatíveis com TBIL e acordo com a resposta à PT e ao T.SPOT-TB.

Quadro 2- Alterações na TCAR de cada um dos 8 pacientes com PT e SPOT TB negativas e TCAR compatível com TBIL

Paciente	Alteração na TCAR
1	Nódulo calcificado LSE
2	Fibrose LSE + linfonodos mediastinais calcificados
3	Alterações fibro-cicatriciais pleuro-apicais bilaterais com distorção da arquitetura +bronquiectasias+nódulo calcificado LSD
4	Nódulo calcificado LID + linfonodo calcificado hilo direito
5	Alterações fibro-cicatriciais pleuro-apicais + nódulo calcificado LSD + linfonodo mediastinal calcificado
6	Espessamento pleural apical bilateral + bandas parenquimatosas em língua + nódulo calcificado LM + linfonodo mediastinal calcificado
7	Nódulo calcificado LID
8	Nódulo calcificado LID

. TCAR: tomografia computadorizada de alta resolução, LSE: lobo superior esquerdo, LSD: lobo superior direito, LM: lobo médio, LID: lobo inferior direito.

O resultado da citometria de fluxo (figura 4), para detecção de células produtoras de IFN- γ , usando como antígeno o HSPx , foi comparado com os resultados da PT e T.SPOT-TB. Não houve diferença estatística para os resultados da citometria de fluxo entre os grupos TBIL e não TBIL($p=0,2439$) (considerando como TBIL PT e/ou T.SPOT-TB positivos)(figura 5).

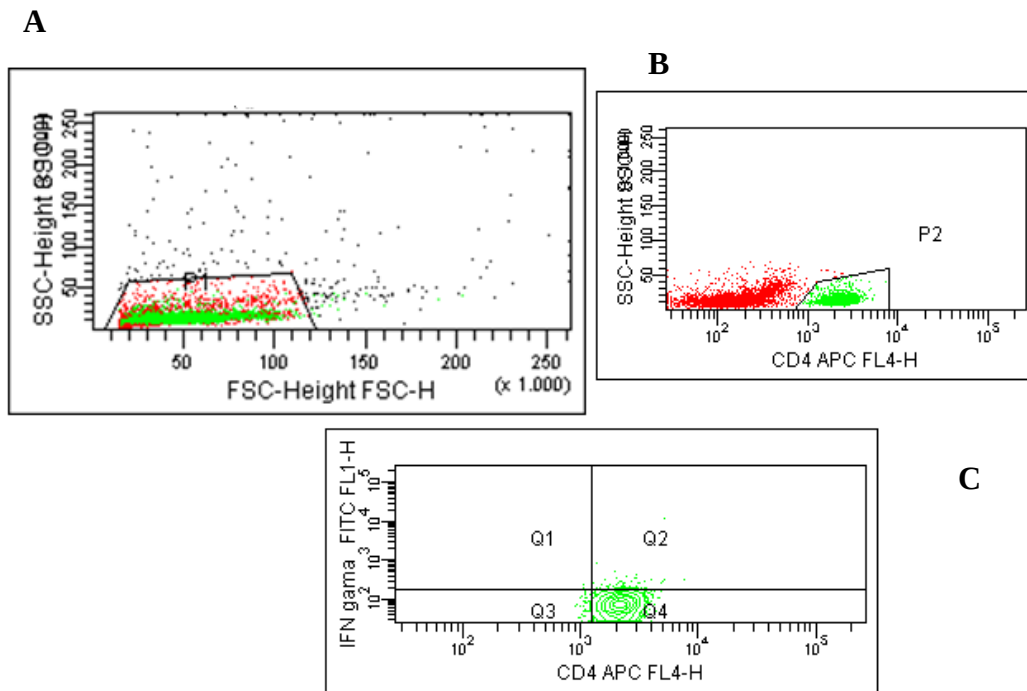


Figura 4- Exemplos de Dot Plots de citometria de fluxo representando a seleção de células TCD4+IFN- γ +

A. Seleção de linfócitos do sangue periférico de um dos pacientes de acordo com os parâmetros de tamanho (FSC) e granulosidade (SSC). **B.** Seleção da população de células TCD4+ de acordo com a granulosidade (SSC). **C.** Seleção de células TCD4+IFN- γ +(Q2). As análises foram realizadas pelo software BD FACS DIVA.

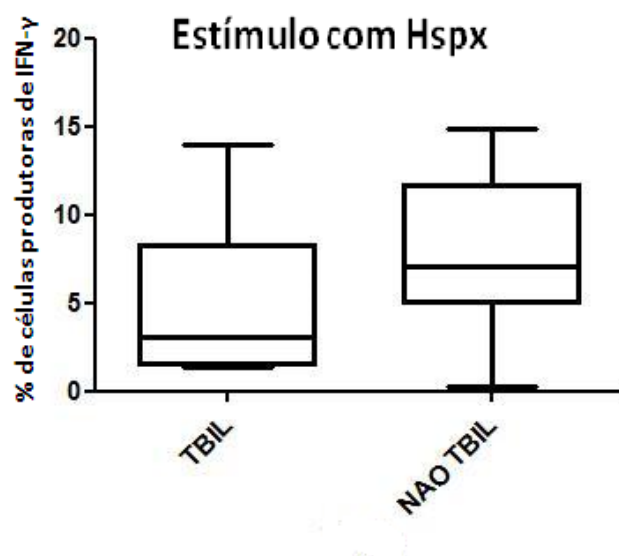


Figura 5. Porcentagens de células TCD4+IFN- γ específicas ao antígeno Hspix de pacientes com TBIL (PT e/ou T.SPOT-TB positivos) e não TBIL (PT e T.SPOT-TB negativos).

Resultados representam a mediana (barra central), o desvio padrão (barras superiores e inferiores) e amplitude de variação (limite superior e inferior do quadrado).

Discussão

Em nosso estudo observamos PT positiva em 13,5% (n total=37) dos pacientes testados. Nosso resultado é semelhante ao de outros estudos. Estudo realizado em Pernambuco por Marques e cols. encontrou PT positiva em 14% dos pacientes com AR contra 33,3% no grupo controle (pacientes sem AR)(9); Ponce de Leon e col. (6), no Peru, observaram PT positiva em 29% da população com AR comparada com 71% no grupo controle; Tamborenea e cols.(10) encontraram PT positiva em 12,4% de uma coorte de pacientes com AR na Argentina. Diferente dos estudos anteriores, estudo realizado nos Estados Unidos por Greenberg e cols. (11), não encontrou diferença na positividade da PT entre pacientes com AR e controles.

A prova tuberculínica é o principal exame utilizado para diagnóstico de infecção latente por *Mycobacterium tuberculosis*. Nos pacientes com AR a resposta a PT vem sendo alvo de discussão, com resultados conflitantes entre estudos. A maioria dos estudiosos, no entanto, concorda que a PT tem uma menor habilidade em diagnosticar TBIL nos pacientes com AR do que em indivíduos saudáveis. O mecanismo pelo qual a resposta à PT está atenuada nos pacientes com AR não está totalmente esclarecido, mas relaciona-se com a anormalidade da função imune celular observada nesses pacientes (12-14). Alguns estudos têm demonstrado melhor sensibilidade da PT em pacientes com algum tipo de imunossupressão, como na AR, com doses maiores de PPD (15-17).

A positividade da prova tuberculínica no presente estudo não foi afetada pelo status vacinal. Encontramos dois pacientes com PT positiva entre os 18 pacientes vacinados e 2 com PT positiva entre os 16 não vacinados; em um dos pacientes com PT positiva não foi possível definir, com certeza o status vacinal. Nosso resultado é semelhante ao de estudos prévios em pacientes com AR que também não encontraram efeito do BCG na PT (6,18). A influência da vacinação com BCG no resultado da PT é conhecida há muito tempo, no entanto estudos recentes minimizam este efeito (19). Alguns fatores afetam essa influência, como por exemplo, a idade dos pacientes. Adultos jovens têm seu resultado afetado de maneira mais pronunciada do que pacientes mais velhos. Outro fator importante é a incidência de tuberculose na região do paciente, sendo menor a influência do BCG no resultado da PT em áreas de endemicidade para tuberculose (20). Como nosso estudo incluiu apenas pacientes com mais de 18 anos, todos com idade entre 39 e 81 anos, e estamos em um país endêmico para tuberculose, a falta de influência da vacina no resultado da PT era esperada. Chama a atenção a grande

porcentagem de indivíduos não vacinados incluídos. A provável explicação é que a maioria dos pacientes são idosos e passaram a infância em área rural, provavelmente sem cobertura vacinal na ocasião.

No presente estudo realizamos o T.SPOT-TB em parte dos pacientes estudados (n=19). Os IGRAs (interferon- gamma release assay) são testes que detectam infecção tuberculosa pela medida in vitro da produção de IFN γ (interferon-gamma) por células T em resposta a antígenos específicos para *Mycobacterium tuberculosis*. Dois IGRAs já foram liberados pelo FDA e estão disponíveis comercialmente em alguns países: o T.SPOT-TB que emprega tecnologia de ELISPOT (enzyme-linked immunospot) e o QuantiFERON que utiliza tecnologia de ELISA. As versões atualmente disponíveis destes testes utilizam antígenos específicos do *Mycobacterium tuberculosis* que estão ausentes na BCG e nas micobactérias não tuberculosas. Em nosso estudo, o T.SPOT-TB foi reativo em 36,8% dos pacientes testados contra 21% de positividade da PT neste grupo, sugerindo uma maior sensibilidade deste método em relação à PT para o diagnóstico de TBIL. Vários estudos prévios têm demonstrado esta maior sensibilidade dos IGRAs em relação à PT no diagnóstico de TBIL em pacientes imunossuprimidos. Estudo conduzido por Richeldi e cols. avaliou a performance da PT, QuantiFERON-TB-GOLD e T.SPOT-TB em três diferentes grupos de imunossuprimidos (HIV positivos, candidatos a transplante hepático e doenças hematológicas malignas), e observou que os IGRAs identificaram um maior número de pacientes com TBIL do que a PT nos três grupos de pacientes, mas com diferenças nos resultados entre os grupos (21). Os resultados do presente estudo em relação ao T.SPOT-TB são semelhantes aos de outros estudos que compararam IGRAs e PT em pacientes com AR, mostrando uma maior positividade dos primeiros (9,21 e 22). No entanto, em uma paciente com PT positiva, o T.SPOT-TB foi não reativo. Esta paciente apresentava alterações tomográficas compatíveis com TBIL, o que sugere um resultado falso negativo do T.SPOT-TB. Apesar da alta sensibilidade dos IGRAs sugerida em estudos anteriores, a maioria desses estudos incluiu pacientes sem condições imunossupressoras (23). Recente estudo em pacientes com doenças inflamatórias intestinais em screening de TBIL para o uso de anti TNF- α , a maioria em uso de imunomoduladores, mostrou que a performance do IGRA foi negativamente afetada pelo uso de imunomoduladores (OR 0.3, 0.1-0.9)(24). Em nosso estudo, a maioria dos pacientes (91,9%) utilizava imunossupressor e/ou dose de corticóide superior a 7,5mg de prednisona ou equivalente. Vários estudos vêm sugerindo uma maior especificidade dos IGRAs em relação à PT no

diagnóstico de TBIL. Vale lembrar no entanto, que o *Mycobacterium leprae*, agente etiológico da hanseníase, doença endêmica no Brasil, possui um antígeno homólogo ao ESAT-6 utilizado nos IGRAs: o L-ESAT-6. Estudo realizado em colaboração entre pesquisadores da Holanda e do Brasil, demonstrou reação cruzada entre esses antígenos, o que poderia limitar sua utilização como ferramenta diagnóstica na tuberculose e na hanseníase em regiões endêmicas para as duas doenças(25).

No presente estudo, paralelamente ao T.SPOT-TB, realizamos medida da liberação de IFN- γ após estímulo com Hsp₆₅ por citometria de fluxo. O Hsp₆₅ é um antígeno expresso pelo *Mycobacterium tuberculosis* durante a infecção em humanos e pode ser identificado na maioria dos pacientes com tuberculose. Estudos já demonstraram que sua expressão está muito aumentada em condição hostil (privação de oxigênio e nutrientes) como acontece na infecção latente (26). O Hsp₆₅ é, portanto, um marcador de infecção latente, e sua utilização em testes diagnósticos poderia ser mais uma opção nesse difícil campo diagnóstico, no entanto a sua acurácia ainda não foi confirmada. Não houve diferença estatística ao compararmos os resultados da citometria de fluxo entre os grupos classificados como TBIL ou NÃO TBIL. Poucos estudos avaliaram a resposta imune celular na TBIL utilizando o Hsp₆₅ como antígeno. Em análise prospectiva de uma coorte de 414 trabalhadores do Hospital de Doenças Tropicais em Goiânia, Goiás, observou-se que, ao pesquisar resposta humoral ao antígeno Hsp₆₅ recombinante do *M. tuberculosis*, foi possível discernir indivíduos portadores de infecção latente recente daqueles indivíduos com infecção latente anterior. Neste trabalho após a definição da infecção por meio da PT, os indivíduos foram acompanhados por três anos e aqueles indivíduos que eram PT negativos e se tornaram PT positivos foram considerados LTBI recente (27). Estudo realizado na Colômbia avaliou a produção de IFN- γ entre contactantes de pacientes com tuberculose utilizando Hsp₆₅ como um dos antígenos. A produção de IFN- γ em resposta ao Hsp₆₅ entre os contactantes foi de 32% contra 3,9% no grupo controle. Vale ressaltar que a metodologia utilizada para medida do IFN- γ foi diferente do nosso estudo mas alerta para o valor da utilização do Hsp₆₅ como marcador de TBIL(28).

Chama a atenção o grande número de pacientes com resultado da PT e T.SPOT-TB negativos, classificados portanto como não TBIL e que apresentaram alterações tomográficas compatíveis com TBIL. Já está bem estabelecido o papel da radiografia de tórax na investigação de TBIL em pacientes com AR com indicação de agentes anti-

TNF- α . As várias diretrizes já publicadas colocam como mandatória a realização de radiografia de tórax, e na presença de alguma alteração sugestiva de TBIL, indicam o tratamento da infecção (3,4). A Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia (SBPT) em sua recente publicação das “ III Diretrizes para a Tuberculose” não é tão clara em relação ao papel da radiografia de tórax no grupo de pacientes com AR, mas sugere sua utilização em qualquer paciente com PT $\geq$ 5mm na decisão de se tratar TBIL (29).

A maior sensibilidade da TCAR em relação à radiografia de tórax tem sido amplamente documentada na literatura mundial e esse método cada vez mais se firma como excelente instrumento diagnóstico principalmente em casos selecionados como: pacientes com sintomas respiratórios e baciloscopia do escarro negativa, casos suspeitos de tuberculose nos quais a radiografia do tórax é normal ou demonstra alteração duvidosa, necessidade de avaliação mediastinal, doença disseminada e alterações endobrônquicas (30). Estudos anteriores já demonstraram também a superioridade da TCAR sobre a radiografia de tórax em detectar alterações sugestivas de TBIL ou TB ativa durante surtos de tuberculose e entre contactantes. Em estudo realizado durante surto de tuberculose em uma escola da Coreia do Sul, realizou-se PT e radiografia de tórax em todos os estudantes e empregados da escola, QuantiFERON-TB- GOLD em indivíduos com PT positiva e tomografia computadorizada de tórax nos indivíduos com QuantiFERON-TB-GOLD positivo ou PT > 20mm. Entre os 52 indivíduos em que a TC de tórax foi realizada, 46 tinham laudos de radiografia de tórax normais . Onze (23,9%) e sete (15,2%) desses indivíduos apresentavam à TC de tórax alterações sugestivas de TB ativa e TBIL, respectivamente(31). Em outro estudo, a TC de tórax revelou alterações sugestivas de tuberculose em 81,2% (n=48) de crianças sintomáticas que tinham membros da família com TB ativa, enquanto a radiografia detectou TB em apenas 14,6% dessas crianças (32). Em estudo realizado durante surto de tuberculose entre soldados das forças armadas da Coreia do Sul, foram incluídos 87 participantes, entre os quais 18 casos de TB foram confirmados. Nove desses pacientes apresentavam radiografia normal e lesões sugestivas de TB ativa na TCAR (33). A relação entre alterações radiológicas e resposta imune celular em pacientes com tuberculose ativa ou latente ainda não está clara. Alguns estudos tentaram correlacionar níveis de produção IFN- γ com a extensão de alterações radiológicas em pacientes com TB ativa e dois deles não encontraram qualquer correlação (34-36). Estudo de radiografias de tórax entre profissionais de saúde com TBIL diagnosticada por PT e/ou QuantiFERON-TB-

GOLD em país com alta incidência de TB encontrou alterações radiográficas em cerca de 2/3 desses indivíduos. Os níveis de IFN- γ assim como o tamanho da induração na PT foram similares nos indivíduos com ou sem alterações radiológicas (37). Estudo recente realizado na Índia, país com alta incidência de tuberculose, incluiu TC de tórax na avaliação de TBIL em pacientes com AR; este estudo utilizou PT (com 10UI de PPD) e QuantiFERON, e diferentemente do nosso estudo, todos os pacientes com alterações tomográficas de TBIL apresentavam PT e/ou QuantiFERON positivos (15). Uma possibilidade para essa diferença nos resultados é de que ao se utilizar doses maiores de PPD no estudo realizado na Índia, ocorreram menos resultados falsos negativos. Nosso estudo é um dos primeiros a avaliar a TCAR como um possível instrumento de diagnóstico de TBIL em pacientes com AR. Como ainda não dispomos de um método padrão-ouro para o diagnóstico de TBIL e os novos métodos disponíveis também apresentam resultados conflitantes no grupo de pacientes com AR, a TCAR de tórax pode ser uma opção útil no diagnóstico. Têm-se demonstrado que não há um teste 100% sensível para o diagnóstico de TBIL, então uma abordagem com testes combinados deve ser uma solução melhor. No presente estudo 72,7% (8/11) dos pacientes com PT e T.SPOT- TB negativos apresentaram alterações à TCAR sugestivas de TBIL. Vale lembrar que várias alterações pulmonares podem estar associadas à AR, seja em decorrência do defeito na imunidade ou da inflamação crônica da própria doença, seja resultado de medicações utilizadas para o tratamento da AR que podem causar toxicidade pulmonar. As manifestações mais frequentes são: doença intersticial pulmonar, derrame ou espessamento pleural, nódulos pulmonares e doença de vias aéreas (38). Consideramos como sugestivos de TBIL apenas os nódulos calcificados, situação bastante incomum nos nódulos reumatóides. Além disso, em todos os casos em que havia espessamento pleural havia também nódulos calcificados concomitantemente. Apesar de outras doenças infecciosas granulomatosas como a histoplasmose poderem ocasionar lesões residuais semelhantes às da tuberculose, a maioria dos inquéritos epidemiológicos realizados no Brasil sugerem que a prevalência da histoplasmose é consideravelmente menor do que a da tuberculose na maioria das regiões do país(39). Além disso, como a reativação de histoplasmose adquirida remotamente é improvável mesmo em pacientes imunossuprimidos, sendo a aquisição exógena a principal via de infecção, não há indicação de screening ou quimioprofilaxia para histoplasmose antes da utilização dos anti-TNF- α até o momento(40). Assim, esse grupo de pacientes com resultados “falso-negativos” para tuberculose de acordo com a PT e T.SPOT-TB,

deveriam ser tratados para TBIL antes de serem encaminhados para o uso de anti-TNF- α .

Constatada a alta prevalência de alterações tomográficas compatíveis com TBIL e sabendo da maior sensibilidade da TCAR sobre a radiografia de tórax em outras situações, novos estudos são importantes para avaliar a vantagem da TCAR sobre a radiografia de tórax no grupo de pacientes com AR.

Nosso estudo apresentou algumas limitações: a falta de um grupo controle com pacientes sem AR para análise das diferenças de resposta à PT e SPOT TB devido à falta de recursos financeiros para incluir um maior número de pacientes e a falta de um método diagnóstico padrão ouro, inerente à TBIL, que permitisse adequada avaliação da sensibilidade e especificidade das diferentes estratégias diagnósticas.

Em conclusão, até o presente, a maioria dos estudos indica que a PT é insuficiente para avaliação de TBIL em pacientes com AR. Os novos métodos diagnósticos de TBIL não estão totalmente validados neste grupo de pacientes e ainda não são recomendados na rotina clínica. A TCAR de tórax é um método disponível na maioria dos grandes centros e que pode ser utilizado como mais uma ferramenta no diagnóstico da TBIL.

Referências

- 1) WHO. Global tuberculosis control: a short update to the 2009 report. Geneva 2009. Disponível em : www.who.int/tb/publications/global_report/ acesso em 25/08/2010.
- 2) Brasil, Ministério da Saúde (DATASUS). Indicadores epidemiológicos e de morbidade. SinanNet. Disponível em:
<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinannet/tuberculose/bases/tubercbrnet.def>
- 3) British Thoracic Society Standards of Care Committee. BTS recommendations for assessing risk and for managing Mycobacterium tuberculosis infection and disease in patients due to start anti-TNF- α treatment. Thorax 2005;60(10):800-805.
- 4) Fonseca JE, Lucas H, Canhão H, Duarte R, Santos MJ, Villar M et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of latent tuberculosis in patients with inflammatory joint diseases proposed for treatment with tumor necrosis factor alpha antagonists drugs. Rev Port Pneumol 2006;12(5):603-613.
- 5) Provenzano G, Ferranti MC, Simon G. Tb screening and anti-TNF- α treatment. Thorax 2005; 60(7):612-615.
- 6) Ponce de León D, Acevedo-Vazquez E, Sanches-Torres A, Cucho M, Alfaro J, Perich R et al. Attenuated response to purified protein derivative in patients with rheumatoid arthritis: study in a population with high prevalence of tuberculosis. Ann Rheum Dis 2005; 64(9): 1360-1361.
- 7) Daley CL, Gotway MB, Jasmer RM. Radiographic manifestations of tuberculosis: a primer for clinicians. Second Edition. San Francisco: Francis J. Curry National Tuberculosis Center, 2009.
- 8) Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for classification of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1988; 31(3):315-24.
- 9) Marques CD, Duarte AL, de Lorena VM, Souza JR, Souza WV, de Miranda Gomes Y et al. Evaluation of an interferon gamma assay in the diagnosis of latent tuberculosis infection in patients with rheumatoid arthritis. Rheumatol Int 2009; 30(1):57-62.
- 10) Tamborenea MN, Tate G, Mysler E, Debonis J, Schijedman A. prevalence of positive PPD in a cohort of rheumatoid arthritis patients. Rheumatol Int 2010; 30(5): 613-16.

- 11) Greenberg JD, Reddy SM, Schloss SG, Kurucz OS, Bartlett SJ, Abramson SB, et al. Comparison of an in vitro tuberculosis interferon-gamma assay with delayed type hypersensitivity testing for detection of latent *Mycobacterium tuberculosis*: a pilot study in rheumatoid arthritis. J Rheumatol 2008;35(5):770-5. Erratum in: J Rheumatol. 2008;35(5):943.
- 12) Emery P, Panayi GS, Symmons D, Brown G. Mechanisms of depressed delayed-type hypersensitivity in rheumatoid arthritis: the role of protein energy malnutrition. Ann Rheum Dis 1984;43(3):430-4
- 13) Corrigal VM, Garyfallos G, Panayi GS. The relative proportions of secreted IL-2 and IL-10 determine the magnitude of rheumatoid arthritis T-cell proliferation to the recall antigen tuberculin purified protein derivative. Rheumatology 1999; 38(12):1203-7.
- 14) Kingsley GH, Pitzalis C, Panayi GS. Abnormal lymphocyte reactivity to self-major histocompatibility antigens in rheumatoid arthritis. J Rheumatol 1987; 14(4):667-73
- 15) Malaviya A, Kapoar S, Garg S, Rawat R, Shankar S, Nagpal S et al. Preventing tuberculosis flare in patients with inflammatory rheumatic diseases receiving tumor necrosis factor- α inhibitors in India- An audit report. J Rheumatol 2009; 36(7):1414-1420.
- 16) Hanta I, Ozbek S, Kuleci S, Kocabas A. The evaluation of latent tuberculosis in rheumatologic diseases for anti-TNF therapy: experience with 192 patients. Clin Rheumatol 2008; 27(9):1083-1086.
- 17) Phadke ME, Kshirsagar NA. Blood tests for diagnosis of tuberculosis. Lancet 2006; 368(9532):282.
- 18) Fuchs I, Avnon L, Freud T, Abu-Shakra M. Repeated tuberculin testing following therapy with TNF- α inhibitors. Clin Rheumatol 2009; 28(2):167-172.
- 19) Wang L, Turner MO, Elwood RK, Schulzer M, Fitzgeregald JM. A meta-analysis of the effect of bacille Calmette-Guérin vaccination on tuberculin test measurements. Thorax 2002; 57(9):804-809.
- 20) Tissot F, Zanetti G, Francioli P, Zellweger J-P, Zysset F. Influence of Bacille Calmette-Guérin vaccination on the size of tuberculin test reaction: to what size? Clin Infect Dis 2005; 40(2): 211-217.
- 21) Richeldi L, Losi M, D'Amico R, Luppi M, Ferrari A, Mussini C et al. Performance of tests for latent tuberculosis in different group of immunocompromised patients. Chest 2009; 136(1):198-204.

- 22) Sellam J, Hamdi H, Roy C, Baron G, Lemann M, Puéchal X et al. Comparasion of in vitro specific blood tests with tuberculin skin test for diagnosis of latent tuberculosis before anti-TNF therapy. *Ann Rheum Dis* 2007; 66(12):1610-1615.
- 23) Pai M, Zwerling A, Menzies D. Sistematic Review: T cell based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. *Ann Intern Med* 2008; 149(3): 177-184.
- 24) Papay P, Eser A, Winkler S, Frantal S, Primas C, Mieshler W et al. Factors impacting the results of interferon-gamma release assay and tuberculin skin test in routine screening for latent tuberculosis in patients with inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2010 aug 18(Epub ahead of print).
- 25) Geluk A, Meijgaarden KE, Franken KLMC, Subronto Y, Wiele B, Arend SM et al. Identification and characterization of the ESAT-6 homologue of *Mycobacterium leprae* and T-cell cross-reactivity with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 2002; 70: 2544-8
- 26) Yuan Y, Crane DD, Simpson RM, Zhu YQ, Hickey MJ, Sherman DR. The 16-kDa a-crystallin (Acr) protein of *Mycobacterium tuberculosis* is required for growth in macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(16):9578-9583.
- 27) Rabahi MF, Junqueira-Kipnis AP, Dos Reis MC, Oelemann W, Conde MB. Humoral response to HspX and GlcB to previous and recent infection by *Mycobacterium tuberculosis*. *BMC Infect Dis* 2007; 7:148.
- 28) Corral HD, París SC, Marín ND, Marín DM, López L, Henao HM. IFN γ response to *Mycobacterium tuberculosis*, risk of infection and disease in household contacts of tuberculosis patients in Colombia. *PLoS One*. 2009; 4(12): e8257
- 29) Conde MB, DE Melo FA, Marques AM, Cardoso NC, Pinheiro VG, DalcinPdeT et al. III Brazilian Thoracic Association Guidelines on tuberculosis. *J Bras Pneumol* 2009;35(10):1018-48
- 30) Capone D, Lopes AJ, Capone RB. Tuberculose. In: Silva CIS, D'Ippollito G, Rocha AJ, editors. Tórax. Série: Colégio Brasileiro de Radiologia e Diagnóstico por Imagem. Rio de Janeiro: Ed Elsevier; 2010.p249-269.
- 31) Lew WJ, Jung YJ, Song JW, Jang YM, Kim HJ, Oh YM et al. Combined use of QuantiFERON-TB GOLD assay and chest computed tomography in a tuberculosis outbreak. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13(5): 633-639.

- 32) Uzum K, Karahan OI, Dogan S, Coskun A, Topocu F. Chest radiography and thoracic computed tomography findings in children who have family members with active pulmonary tuberculosis. *Eur J Radiol* 2003; 48(3):258-262.
- 33) Lee SW, Jang YS, Park CM, Kang HY, Koh WJ, Yim JJ et al. The role of chest CT scanning in tuberculosis outbreak investigation. *Chest* 2010; 137(5): 1057-1064.
- 34) Pai M, Joshi R, Bandyopadhyay M, Dogra S, Narang P, Taksande B et al. Sensitivity of whole blood interferon gamma assay among patients with pulmonary tuberculosis and variations in T cell response during anti-tuberculosis treatment. *Infection* 2007; 35(2): 98-103.
- 35) Seah GT, Scott GM, Rook GA. Type 2 cytokine gene activation and its relationship to extend of disease in patients with tuberculosis. *J Infect Dis* 2000; 181(1):385-89.
- 36) Sodhi A, Gong J, Silva C, Qian D, Barnes PF. Clinical correlates of interferon gamma production in patients with tuberculosis. *Clin Infect Dis* 1997; 25(3):617-620.
- 37) Joshi R, Patil S, Kalantri S, Schuwartzman K, Menzies D, Pai M. Prevalence of abnormal radiological findings in health care workers with latent tuberculosis infection and correlations with T cell immune response. *PlosONE* 2007; 2(8):e805.
- 38) Antin-Ozerkis D, Evans J, Rubinowitz A, Homer RJ, Matthay RA. Pulmonary manifestations of rheumatoid arthritis. *Clin Chest Med* 2010; 31: 451-478.
- 39) Fava SDiC, Fava Netto C. Epidemiologic surveys of histoplasmin and paracoccidioidin sensitivity in Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1998; 40(3):155-164.
- 40) Wood K, Hage CA, Knox KS, Kleiman MB, Sannuti A, Day RB and col. Histoplasmosis after treatment with anti-tumor necrosis factor- α therapy. *AJRCCM* 2003; 167(9):1279-1282.

5 CONCLUSÕES

- A resposta à PT com PPD foi atenuada no grupo de pacientes com artrite reumatoide (13,5%) em relação ao esperado para população geral de 30% conforme estimativa da WHO. Dessa forma, a PT é insuficiente como teste diagnóstico de TBIL em pacientes com AR.
- A positividade do T.SPOT-TB foi de 36,8%; maior do que a resposta à PT. Esse melhor rendimento sugere uma aplicabilidade nos pacientes com PT negativa.
- A dosagem de IFN- γ após estímulo com Hsp α através de citometria de fluxo não foi capaz de diferenciar pacientes com TBIL dos pacientes não TBIL, indicando que o teste não foi adequado para diagnóstico de TBIL nesse grupo de pacientes com AR.
- A prevalência de alterações tomográficas compatíveis com TBIL foi alta (52,9%), identificando um maior número de pacientes com TBIL do que a PT e o T.SPOT-TB. Assim, nos casos em que a PT for negativa e a radiografia de tórax não mostrar alterações sugestivas de TBIL, a TCAR deve ser realizada.

6 PERSPECTIVAS

O papel da PT e dos IGRAs no diagnóstico da TBIL em pacientes com AR não está completamente estabelecido. Novas pesquisas são necessárias em populações com diferentes incidências de tuberculose, com o intuito de se avaliar o papel de cada exame nesse grupo específico de pacientes. Provavelmente nenhum dos exames atualmente disponíveis tornar-se-ão padrão ouro entre os pacientes com AR. Novas estratégias diagnósticas, que incorporem exames já disponíveis como a TCAR, podem melhorar a pesquisa de TBIL em pacientes com AR e permitir um melhor emprego do tratamento da infecção latente, minimizando assim o risco de desenvolvimento de tuberculose ativa neste grupo de pacientes que já apresenta uma doença tão limitante como a AR.

7 REFERÊNCIAS

- Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000; 356:1099-104.
- Antin-Ozerkis D, Evans J, Rubinowitz A, Homer RJ, Matthay RA. Pulmonary manifestations of rheumatoid arthritis. *Clin Chest Med* 2010; 31: 451-478.
- Aranaz A, Cousins D, Mateos A, Domínguez L. Elevation of *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* Aranaz et al. 1999 to species rank as *Mycobacterium caprae* comb. nov. , sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003; 53:1785-9.
- Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA et al: The American Rheumatism Association. 1987 Revised Criteria for Classification of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-24
- Bates JH, Stead WW. The history of tuberculosis as a global epidemic. *Med Clin North Am* 1993; 77(6):1205-17.
- Bertho AL. Núcleo de Citometria de Fluxo do Laboratório de Imunoparasitologia, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ . Citometria de fluxo. Disponível em: <http://picf.ioc.fiocruz.br/apostila.doc/> acesso em 23/11/2010
- Bértolo MB, Brenol CV, Shainberg CG, Neubarth F, Lima FAC, Laurindo IM et al. Atualização do Consenso Brasileiro no Diagnóstico e Tratamento da Artrite Reumatoide . *Rev Bras Reumatol* 2007; 47(3):151-9.
- Bilgici A, Ulusoy H, Kuru O, Çelenk Ç, Unçal M and Danaci M. Pulmonary involvement in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2005; 25(6):429–35.
- Brasil, Ministério da Saúde (DATASUS). Indicadores epidemiológicos e de morbidade. Disponível em <http://tabnet.datasus.gov.br>

- Brasil. Ministério da Saúde. Tuberculose. Guia de Vigilância Epidemiológica. Comitê técnico-científico de assessoramento a tuberculose e Comitê assessor para co-infecção HIV-tuberculose. Brasília, Brasil. 2002; 100p.
- Carvalho ES, Ferraz MB, Cicconeli RM. *Mycobacterium tuberculosis* versus artrite reumatoide: associação ou relação causal? Um século de história. Rev Bras Reumatol 2002; 42(2): 115-21.
- Chang Z, Prim TP, Jakana J, Lee IH, Serycheva I, Chiu W, Gilbert HF, Quiocho FA. Mycobacterium tuberculosis 16-kDa antigen(Hsp_x 16,3) functions as an oligomeric structure in vitro to suppress thermal aggregation. J Biol Chem 1996; 271: 7218-23.
- Choy EHS, Panayi GS. Mechanism of Diseases: Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. N Engl J Med 2001; 344(12): 907-16.
- Cockle PJ, Gordon SV, Lalvani A, Buddle BM, Hewinson RG, Vordermeier HM. Identification of novel *M.tuberculosis* antigens with potential as diagnostic reagents or subunit vaccine candidates by comparative genomics. Infection and Immunity 2002; 70(12):6996-7003.
- Conde MB, De Melo FA, Marques AM, Cardoso NC, Pinheiro VG, Dalcin PdeT et al. III Brazilian Thoracic Association Guidelines on tuberculosis. J Bras Pneumol 2009;35(10):1018-48
- Cousins D, Bastida R, Cataldi A, Quse V, Redrobe S, Dow S, et al. Tuberculosis in seals caused by a novel member of the Mycobacterium tuberculosis complex: *Mycobacterium pinnipedii* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 2003; 53:1305-14.
- Daniel TM, Debanne SM. The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases by enzyme-linked immunosorbent assay. Am Rev Resp Dis 1987; 135:1137-51.

- Davey H, Kell DB. Flow cytometry and cell sorting of heterogeneous microbial populations: the importance of single-cell analyses. *Microbiol Rev* 1996; 60(4): 641-96.
- Davis JM, Ramakrishnam L. The role of granuloma in expansion and dissemination of early tuberculosis infection. *Cell* 2009; 136:37-49.
- Dooley KE, Sterling TR. Treatment of latent tuberculosis infection: challenges and prospects. *Clin Chest Med* 2005; 26:313-26.
- Food and Drug Administration. Disponível em <<http://www.fda.gov>>. Acesso em 30 de agosto de 2010.
- Flynn J, Chan J. Immunology of tuberculosis. *Annu Rev Immunol* 2001; 19:93-129.
- Fraser and Paré's. *Diagnosis of diseases of the chest*. 4ªEd. Philadelphia: Saunders. 1999.
- Gardam MA, Keystone EC, Menzies R, Manners S, Skmene E, Long R et al. Anti-tumor necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanism of action and clinical management. *Lancet Infect Dis* 2003; 3(3):148-55.
- Goodwin RA, Des PRM. Apical localization of pulmonary tuberculosis, chronic pulmonary histoplasmosis and progressive massive fibrosis of the lung. *Chest* 1983; 83:801-805.
- Hochberg MC. Adult and juvenile rheumatoid arthritis. *Current epidemiologic concepts*. *Epidemiol Rev* 1981; 3:27-44.
- Hu Y, Coates AR. Transcription of the stationary-phase-associated *Hspx* gene of *Mycobacterium tuberculosis* is inversely related to synthesis of the 16-kilodalton protein. *J Bacteriol* 1999; 181: 1380-87.

- Jalal H, Millar M, Linton C, Dieppe P. Absence of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1994; 53: 695-698.
- Jasmer RM, Nahid P, Hopewell PC. Latent tuberculosis infection. *New Engl J* 2002; 347(23): 1860-6
- Kaufmann SH. New issues in tuberculosis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63(suppl 11): 1150-56.
- Kempel KE, Cox CJ, McColm AA et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* group organisms in human and mouse joint tissue by reverse transcriptase PCR: prevalence in diseased synovial tissue suggest lack of specific association with rheumatoid arthritis. *Infect Immun* 2001; 69:1821-31.
- Kaye BR, Kaye RL, Bobrove A. Rheumatoid nodules. Review of the spectrum of associated conditions and proposal of a new classification, with a report of four seronegative cases. *Am J Med* 1984;76(2): 279–92.
- Kritski AL, Conde MB, Souza GRM. Tuberculose do ambulatório à enfermaria. 3ªEd. Rio de Janeiro: Atheneu.2005.
- Lalvani A. Diagnosing tuberculosis infection in the 21th century: new tools to tackle an old enemy. *Chest* 2007; 131(6):1898-906.
- Liipo KK, Kulmala K, Tala EO. Focusing tuberculosis contact tracing by smear grading of index cases. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 235-6
- Lipski P. Artrite Reumatoide. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DI, Hauser SI, Longo DL, Jamerson JL et al, editors. Harrison: Princípios de Medicina Interna. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; 2006. p. 2064-73.

- Marques-Neto JF, Gonçalves ET, Barros EFO et al. Estudo multicêntrico da prevalência de artrite reumatoide do adulto em amostra da população brasileira. Rev Bras Reumatol 1993; 33(5):169-73.
- Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, Iademarco MF, Metchock B, Vernon A. Guidelines for using the QuantiFERON[®]TB-GOLD test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection. MMWR, December 2005/54(RR15):49-55.
- Munk ME, Arend SM, Broch I, Ottenhoff TH, Andersen P. Use of ESAT-6 and CFP-10 antigens for diagnosing of extrapulmonary tuberculosis. J Infect Dis 2001; 183(1): 175-6.
- North RJ, Jung YJ. Immunity to tuberculosis. Ann Rev Immunol 2004;(22): 599-623.
- Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic Review: T-cell based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. Ann Intern Med 2008; 149: 177-84.
- Popper MS, Bogdanoff ML, Hughes RL. Interstitial rheumatoid lung disease. A reassessment and review of the literature. Chest 1972; 62(3):243-50.
- Pras E, Shumacher HR Jr, Kastner DL, Wilder RL. Lack of evidence of Mycobacteria in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1996; 39: 2080-81.
- Richeldi L. An update on the diagnosis of tuberculosis infection . Am J Resp Crit Care Med 2006; 174: 736-742.
- Rubin EJ. The granuloma in tuberculosis: friend or foe. N Engl Med 2009; 360(23): 2471-73

- Schlesinger LS. Role of mononuclear phagocytes in *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis. J Investig Med 1996; 44: 312-23.
- Schluger NW, Rom WN. The host immune response to tuberculosis. Am J Resp Crit Care Med 1998; 157: 679-91.
- Suresh E. Recent advances in rheumatoid arthritis. Postgrad Med J 2010; 1014: 243-250.
- Teixeira HC, Abramo C, Munk ME. Diagnóstico imunológico da tuberculose: problemas e estratégias para o sucesso. J Bras Pneumol 2007; 33(3): 323-34.
- Thelirian CV, Bathon M. Rheumatoid arthritis: clinical and laboratory manifestations. In: Stone JH, Crofford LJ, White P, Editors. Klippel JH: Primer on the Rheumatic Diseases. Nova York: Springer; 2008 p 114-121.
- Van Soolingen D, Hoogenboezem T, de Haas PEW, Hermans PWM, Koedam MA, Teppema KS, et al. A novel pathogenic taxon of the *Mycobacterium tuberculosis* complex, *Canettii*: Characterization of an exceptional isolate from Africa. Int J Syst Bacteriol 1997; 47(4):1236-45.
- White DA, Mark EJ, Scully RE, McNeely WF, Shepard JO. Case records of the Massachusetts General Hospital. Weekly clinicopathological exercises. Case 10-2001. A 53-year-old woman with arthritis and pulmonary nodules. N Engl J Med 2001; 344(13):997–1004.
- Yuan Y, Crane DD, Barry III CE. Stationary phase associated protein expression in *Mycobacterium tuberculosis* function of the micobacterial α -crystallin homolog. J Bacteriol 1996; 178: 4484-4492.
- Yuan Y, Crane DD, Simpson RM, Zhu YQ, Hickey MJ, Sherman DR, Barry III CE. The 16-kDa α -crystallin (Acr) protein of *Mycobacterium tuberculosis* is

required for growth in macrophages. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95: 9578-83.

8. ANEXOS

Anexo I: Termo de Consentimento

Termo de consentimento livre e esclarecimento do participante

Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa intitulada “Resposta humoral e celular na tuberculose infecção latente em pacientes com artrite reumatóide”. O pesquisador responsável por esse projeto é o Dr. Marcelo Fouad Rabahi, especialista em doenças pulmonares.

Após ler com atenção este documento, ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte desta pesquisa assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Você ainda terá liberdade para sair do estudo a qualquer momento, se quiser, e sem precisar se explicar para isso. Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato conosco, Dr. Marcelo ou Dra Daniela 3269-8385 e 3269-8350. Por ser uma participação voluntária e sem interesse financeiro, você não terá direito a nenhuma remuneração. A recusa em participar não acarretará nenhuma penalização a você.

Trata-se de um estudo, que tem como objetivo avaliar a resposta imunológica para tuberculose em pacientes com artrite reumatóide. Acredita-se que pacientes com artrite reumatóide, em decorrência da própria doença ou pelas medicações utilizadas no seu tratamento, tem maior chance de desenvolver infecções, principalmente tuberculose. A pesquisa também tem como objetivo estudar, no paciente com artrite reumatóide, o resultado de um exame muito utilizado na tentativa de identificar pacientes que já tiveram contato com o bacilo da tuberculose: a prova tuberculínica e comparar esse resultado com exames de sangue mais recentemente utilizados. Estudaremos ainda alterações pulmonares que uma parcela dos pacientes com artrite reumatóide desenvolvem durante o curso de sua doença.

Para que essas avaliações sejam possíveis, serão necessárias na avaliação inicial: exame clínico, coleta de sangue, realização de radiografia de tórax e tomografia computadorizada de tórax, provas de função pulmonar e prova tuberculínica. Não haverá reavaliações a não ser que por algum problema técnico algum exame precise ser repetido.

Abaixo, uma breve descrição dos procedimentos envolvidos:

- 1) Coleta de sangue: será colhida em uma veia de seu antebraço cerca de 20ml de sangue para realização de exames que avaliam a resposta imune.
- 2) Radiografia e tomografia computadorizada de tórax: serão realizados para avaliar possível comprometimento pulmonar pela artrite reumatóide. São procedimentos indolores mas que vão expor você a um grau de radiação considerado seguro.
- 3) Prova de função pulmonar: será pedido que você encha bem o peito e sopre o mais forte e rápido que puder e por tanto tempo quanto conseguir em um bocal de uma máquina chamada espirômetro. O exame será repetido após usar uma dose inalada de salbutamol. Nos pacientes em que a espirometria estiver alterada outros dois exames poderão ser realizados no mesmo equipamento, com manobras respiratórias um pouco diferentes
- 4) Prova tuberculínica: é um exame que pode identificar indivíduos que tiveram contato com o bacilo da tuberculose. Consiste na aplicação de uma substância conhecida como PPD, que não causa alterações nocivas ao seu organismo e pode causar leve dor no local da aplicação, sendo normal o aparecimento de um nódulo endurecido e avermelhado nesse local. O teste será realizado por via intradérmica, na dose de 0,1ml – equivalente a 2UT (unidade tuberculínica) – na parte anterior do antebraço esquerdo, com seringa tipo insulina, de 1ml. A aplicação dos testes será realizada por profissional adequadamente treinado.

Os seus dados serão sigilosos e privados, sendo que você poderá solicitar informações durante todas as fases da pesquisa, se achar necessário, inclusive após a publicação da mesma.

Garantimos a você que os dados coletados serão utilizados apenas para essa pesquisa e não serão armazenados para estudos futuros.

Você não está abrindo mão de nenhum de seus direitos legais ao assinar este documento, incluindo seu direito relacionado à indenização por danos

Em caso de dúvidas sobre seus direitos com participante nessa pesquisa você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética do Hospital das Clínicas – UFG nos telefones: 3269-8338 / 3269-8426.

Consentimento da participação da pessoa como sujeito da pesquisa

Eu, _____, RG/ CPF/_____ abaixo assinado, concordo em participar do estudo intitulado “Resposta humoral e celular na tuberculose infecção latente em pacientes com artrite reumatóide” , sob a responsabilidade da Dr Marcelo Fouad Rabahi como sujeito voluntário.

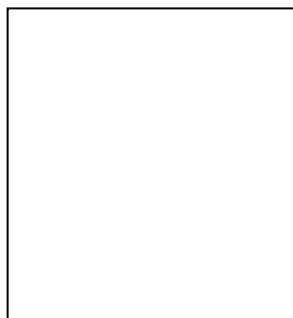
Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador

_____ sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/ tratamento.

Local e Data: _____

Nome e Assinatura do sujeito: _____

Assinatura Dactiloscópica:



Nome e Assinatura do Pesquisador Responsável: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimento sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____ Assinatura: _____

Nome: _____ Assinatura: _____

Anexo II: Questionário

Nome: _____
Nº identificação _____ Data: _____
Data nasc: _____ Idade: _____
Sexo: () fem () masc Pront: _____
Endereço: _____
Telefone: () _____ Cel: () _____
Naturalidade: _____
Profissão: _____ Medico assistente: _____
Diagnóstico de AR há: _____

Medicação	Dose/dia	Medicação	Dose/dia

LTB ()sim ()não usa ACO()sim ()não Pode estar grávida()sim ()não () NA
Tabagista atual()sim ()não anterior()sim ()não() Anos/maço _____
Parou há: _____
Fogão a lenha ()sim ()não Anos/lenha: _____
Comorbidades e medicações: _____

Antecedentes profissionais: _____
Escolaridade: _____
Condições de moradia: _____
Já teve contato com tuberculose? ()sim ()não _____
Já fez PPD () sim () não _____
Foi vacinado com BCG ()sim ()não () não sabe
Tem cicatriz vacinal? ()sim () não
Tosse() Expectoração() chiado () febre() perda de peso() inapetência()
Dispnéia()

Classificação	
Grau I	Dispnéia para atividade física intensa(correr, nadar, praticar esporte)
GrauII	Dispnéia para caminhar apressadamente no plano ou quando sobe ladeira
Grau III	Anda mais devagar que pessoas da mesma idade devido a falta de ar ou quando caminha no plano no próprio passo tem que parar para descansar
Grau IV	Após andar alguns metros ou alguns minutos tem que parar para descansar
Grau V	Falta de ar impede que saia de casa ou surge falta de ar quando troca de roupa

Exame físico: _____

Consentimento () _____
PPD () _____

Espirometria () _____

TCAR: ()

Coleta de Sangue ()

Critérios diagnósticos da AR

- () Rigidez matinal por pelo menos 1h
- () artrite de três ou mais articulações
- () artrite de articulações de mãos
- () artrite simétrica
- () nódulo reumatóide
- () fator reumatóide _____
- () alterações radiográficas(erosões ou descalcificações em mãos e punhos)

OBS: Primeiros 4 critérios presentes por pelo menos 4 semanas

Necessários 4 dos 7 critérios.

Anexo III: Aprovação pela Comissão de Ensino e Pesquisa

PROTOCOLO CEPMHA/HC/UFG Nº 195/07

Goiânia, 25/03/2008

INVESTIGADOR (A) RESPONSÁVEL (IES): Orientador: Prof. Dr. Marcelo Fouad Rabahi

EQUIPE DE PESQUISADORES: Dra. Daniela Schwartz Tammus Silva, Profª Ana Paula Junqueira-Kipnis, Prof. Nilzio Antonio da Silva e Prof. Marcus Conde.

TÍTULO: “Resposta humoral e celular na tuberculose infecção latente em pacientes com artrite reumatóide candidatos ao uso de agentes inibidores do fator de necrose tumoral”

Área Temática: Grupo III

Local de Realização: Hospital das Clínicas/UFG – Depto. de Clínica Médica/Serviço de Reumatologia

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, após análise das adequações solicitadas, aprovou o projeto de acima referido, e o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes.

→ Informamos que não há necessidade de aguardar o parecer da CONEP- Comissão Nacional de Ética em Pesquisa para iniciar a pesquisa.

→ O pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEPMHA/HC/UFG, **relatórios trimestrais** do andamento da pesquisa, data do encerramento, conclusão(ões) e publicação(ões).


Farm. José Mário Coelho Moraes
Coordenador do CEPMHA/HC/UFG