

CLÁUDIA DINIZ LOPES MARQUES

**AVALIAÇÃO DO TESTE T-SPOT.TB NO DIAGNÓSTICO DA
INFECÇÃO TUBERCULOSA LATENTE EM PACIENTES COM
ARTRITE REUMATOIDE**



Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – FIOCRUZ, para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração Saúde Pública.

Orientadores:

Prof.Dr. Eduardo Maia Freese de Carvalho e Prof^a. Dr^a.Yara de Miranda Gomes

RECIFE

2008

Catálogo na fonte: Biblioteca do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

M357e Marques, Claudia Diniz Lopes
Avaliação do Teste T-SPOT.*TB* no Diagnóstico de Infecção Tuberculosa Latente em Pacientes Com Artrite Reumatoide / Claudia Diniz Lopes Marques. – Recife: C.D.L. Marques, 2008.
144 f.: il., tabs; figs.

Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, 2008.
Orientadores: Eduardo Maia Freese de Carvalho e Yara de Miranda Gomes

1. Artrite reumatoide. 2. Tuberculose - diagnóstico. 3. Fator de Necrose Tumoral – antagonistas & inibidores. 4. ELISA. Carvalho, Eduardo Maia Freese, II. Gomes, Yara de Miranda.

CDU 616-002.5

Cláudia Diniz Lopes Marques

**AVALIAÇÃO DO TESTE T-SPOT.TB NO DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO
TUBERCULOSA LATENTE EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE**

Tese apresentada ao Programa de Pós
Graduação do Centro de Pesquisas
Aggeu Magalhães – FIOCRUZ, para
obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área de concentração Saúde
Pública.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Dra. Silvia Maria Lucena Montenegro
CPqAM/FIOCRUZ

Dra. Marli Tenório Cordeiro
LACEN/PE

Dra. Ângela Luzia Branco Pinto Duarte
UFPE

Dra. Eduarda Ângela Pessoa Cesse
CPqAM/Fio cruz

Prof. Dr. Eduardo Maia Freese de Carvalho
(Orientador 1) - CPqAM/FIOCRUZ

Prof^ª. Dra. Yara de Miranda Gomes
(Orientador 2) - CPqAM/FIOCRUZ

*A Romero, co-autor dos meus sucessos e das
minhas realizações;
À Gabriel e Sophia, minhas duas obras primas.
AMO VOCÊS.*



AGRADECIMENTOS



Uma tese de doutorado é um trabalho “individual”, que encerra um ciclo importante em nossa vida. No entanto, para que este trabalho seja realizado, contamos com a ajuda de várias pessoas, nas mais diversas instâncias, que às vezes, mesmo sem saber, colaboram com sua realização. Não existe nível de importância; cada um tem a seu modo, um papel fundamental para a conclusão deste trabalho.

A todos aqueles que participaram comigo desta caminhada, os meus mais sinceros agradecimentos...

Ao Dr. Eduardo Freese, meu orientador, que confiou em mim e me recebeu dentro desta instituição, fornecendo todo o apoio necessário para a realização do curso e da tese;

À Dra Yara Gomes, minha “orientadora-quase-mãe”, o agradecimento nunca será suficiente, pois tudo, absolutamente tudo que era possível ser feito, ela fez. A minha vida hoje se divide em era pré e pós Yara.

À Virgínia Lorena e Joelma Souza , pela realização da técnica do T-SPOT.*TB* e pelos ensinamentos valiosos dentro do laboratório; vocês foram fundamentais na realização deste trabalho;

Ao Dr. Wayner Souza, que me deu noções e lições de estatística durante o curso e no momento da análise dos resultados;

A todos que compõem o laboratório de imunologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, pela acolhida sempre simpática e receptiva;

Ao LAVITE, na pessoa da Dra. Laura Helena V. G. Gil, que gentilmente permitiu a utilização do CTL-Immunospot para leitura das placas de ELISPOT;

Ao Alessandro Araujo, secretário da direção, que sempre foi de uma atenção e disponibilidade extraordinárias;

A todos que fazem parte da secretaria acadêmica do CPqAM, sob a coordenação de Nilda Lima, pelo suporte durante o curso;

À Dra. Ana Cristina Monteiro, gerente médica da Mantecorp Indústria Farmacêutica, pela idéia do tema da tese em nossas várias conversas e pelo apoio financeiro para aquisição dos *kits* do T-SPOT.*TB* e dos frascos de PPD;

Ao Dr. Antonio Carlos Figueira, superintendente do IMIP, por permitir que eu me ausentasse das minhas obrigações na instituição para conclusão da tese;

Ao Centro de Estudos em Reumatologia de Pernambuco, representado pelos Drs. Fernando Cavalcanti e Ângela Duarte, pelo apoio financeiro para realização das radiografias;

Aos residentes e estagiários de Reumatologia do Hospital das Clínicas – Juliana, Roberta, Andréa, Thiago, Evaldo, Alexandre, Elaine, Roberto e Rui – pelo auxílio na seleção dos pacientes e pela disponibilidade sempre que necessário;

À Dona Avani, secretária do ambulatório de reumatologia do HC, pela ajuda na recepção e organização dos pacientes;

Ao Dr. Sílvio Cavalcanti pelo auxílio na leitura das radiografias;

À Dra. Ângela Duarte, minha mestra na reumatologia, um agradecimento especial por tudo que representa na minha trajetória;

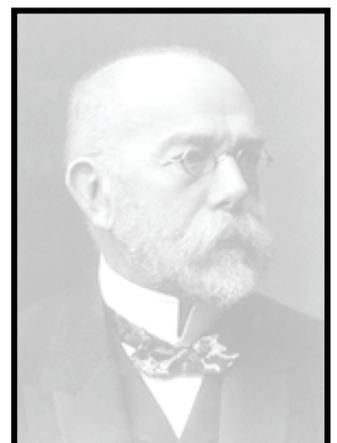
Aos meus pais, Dioniz e Jurema, meus mestres na vida, que tornaram possível a minha chegada até aqui; sem eles, nada teria acontecido;

Ao meu marido, Romero, que não poupou esforços para me ajudar durante o curso (chegou até a receber dos meus colegas de classe o apelido do “Super-Homem”) e que com seu carinho e compreensão me deu estabilidade e serenidade para concluir a tese;

Aos amigos, todos, mas em especial à minha grande amiga Adriana Valentina, sempre presente com uma palavra de carinho, apoio e incentivo;

E como não poderia deixar de ser, agradeço imensamente aos voluntários que participaram deste estudo, sem os quais seria impossível a realização deste trabalho.

"If the importance of a disease for mankind is measured by the number of fatalities it causes, then tuberculosis must be considered much more important than those most feared infectious diseases, plague, cholera and the like. One in seven of all human beings dies from tuberculosis. If one only considers the productive middle-age groups, tuberculosis carries away one-third, and often more."
24 de março de 1882



Robert Koch
1843 -1910



RESUMO

Com a introdução dos Inibidores do Fator de Necrose Tumoral (anti-TNF's) na prática reumatológica, a identificação de casos de infecção tuberculosa latente (ITBL) passou a ser obrigatória antes do início da terapêutica. O teste cutâneo da tuberculina (PPD) não é um teste de *screening* ideal neste grupo de pacientes, pois apresentam uma resposta inadequada de hipersensibilidade tardia, fundamental para que se produza uma resposta ao antígeno inoculado. Ensaio baseado na detecção da produção de IFN γ *in-vitro* por células mononucleares periféricas estimuladas por antígenos específicos (ESAT-6 e CFP-10) são mais específicos do que o PPD na detecção de ITBL. O objetivo do nosso estudo foi avaliar o desempenho do T-SPOT.TB no diagnóstico de ITBL em pacientes portadores de artrite reumatóide (AR). Foi realizado um estudo transversal, para avaliação de teste diagnóstico, onde foram incluídos 96 pacientes, divididos em dois grupos – 48 portadores de AR (grupo AR) e 48 pessoas saudáveis, que constituíram o grupo de comparação (grupo COMP). Todos os voluntários foram submetidos a uma entrevista, coleta de sangue para realização do T-SPOT.TB seguida da inoculação da PPD. O T-SPOT.TB foi realizado de acordo com as orientações do fabricante e a leitura do PPD foi realizada após 72 horas da inoculação. Foram calculados a sensibilidade e a especificidade do T-SPOT.TB comparado com o padrão ouro. Uma vez que o PPD é considerado como padrão ouro imperfeito, foram criados quatro modelos para o estudo: PPD isolado; PPD e alterações radiográficas compatíveis com ITBL; PPD e história contato intra-domiciliar e PPD, alterações radiográficas e contato intradomiciliar. A especificidade do T-SPOT.TB variou entre 87 e 90% e o valor preditivo negativo (VPN), entre 94,4 e 100%. A sensibilidade foi 100% nos modelos que não incluíram o RX, caindo para 77,8 e 89,5% nos dois outros. No grupo AR a frequência de infecção latente diagnosticada pelo PPD foi inferior (14,6%) à encontrada no grupo de comparação (33,3%), com uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,034$), o que não ocorreu no grupo COMP. Esta diferença pode ser explicada pelo comprometimento da hipersensibilidade tardia em pacientes com AR. Concluindo, podemos dizer que o T-SPOT.TB apresenta uma especificidade e VPN elevados, sendo capaz de identificar os casos de PPD falso negativos, aumentando a segurança para o uso do anti-TNF.

Palavras-chave: artrite reumatóide; tuberculose; anti-TNF; diagnóstico

ABSTRACT

With the introduction of Tumor Necrosis Factor Inhibitors (anti-TNFs) into rheumatological practice, it has become obligatory to identify cases of latent tuberculosis infection (LTBI) prior to the start of treatment. The tuberculin skin test (PPD) is not an ideal screening test for this group of patients, as it responds inadequately to late hypersensitivity, which is fundamental for producing a response to the inoculated antigen. Assays based on detection of the production of IFN γ *in-vitro* by mononuclear peripheral cells stimulated by specific antigens (ESAT-6 and CFP-10) are more specific than PPD in detecting LTBI. The aim of this study was to evaluate the performance of T-SPOT.TB in diagnosis of LTBI in patients with rheumatoid arthritis (RA). A cross-cutting study was carried out to evaluate the diagnostic test, covering 96 patients, divided into two groups – 48 with RA (the RA group) and 48 healthy individuals, who made up the comparison group (the COMP group). All the volunteers were interviewed and blood samples were taken for the T-SPOT.TB followed by PPD inoculation. The T-SPOT.TB was conducted in accordance with the guidelines provided by the manufacturer and the reading of the PPD was carried out 72 hours after inoculation. The sensitivity and specificity of the T-SPOT.TB were calculated and compared with the gold standard. As the PPD is considered to be an imperfect gold standard, four models were established for this study: PPD in isolation; PPD and radiological alterations compatible with LTBI; PPD and a history of contact inside the home and PPD, history of contact inside the home and radiological alterations. The specificity of the T-SPOT.TB varying from 87 to 90% and the negative predictive value (NPV), from 94.4 to 100%. The sensitivity was 100% for the models that did not include RX, dropping to 77.8 and 89.5% for the other two. In the RA group, the frequency of diagnosis of latent infection by PPD was lower (14.6%) than that found in the comparison group (33.3%), this difference being statistically significant ($p=0.034$), although this was not the case for the COMP group. This difference could be explained by the impairment of delayed hypersensitivity of the patient with RA. It can be concluded that the T-SPOT.TB showed high specificity and NPV, proving capable of identifying false negative cases of PPD, raising the level of safety for use of anti-TNFs.

Key words: rheumatoid arthritis; tuberculosis; anti-TNF; diagnosis

LISTA DE ABREVIATURAS

ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
AIJ	Artrite idiopática juvenil
AINH	Anti-inflamatório não hormonal
Anti-CCP	Anti peptídeo cíclico citrulinado
APSo	Artrite psoriásica
AR	Artrite Reumatóide
BCG	Bacilo de Calmete-Guérin
CAA	Célula Apresentadora de Antígeno
CFP-10	Cultura Filtrada de Proteína
CPR	Composição de um padrão de referência
DII	Doença Inflamatória Intestinal
DMARD	<i>Disease Modification Anti-rheumatic Drugs</i>
EA	Espondilite Anquilosante
ELAM-1	<i>Endothelial cell leukocyte adhesion molecule-1</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay</i>
ELISPOT	<i>Enzyme-Linked-Immunospot Assay</i>
ESAT-6	<i>Early-secreted antigenic target</i>
EVA	Escala Visual Analógica
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FR	Fator reumatóide
GM-CSF	<i>Granulocyte Macrophage – Colony Stimulator Factor</i>
HC	Hospital das Clínicas
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HLA	Antígeno de histocompatibilidade
ICAM	<i>Intercelular adesion molecule</i>
IFN- γ	Interferon gama
IL	Interleucina
ITBL	Infecção Tuberculosa Latente
LTBI	<i>Latent Tuberculosis Infection</i>
LTh	Linfócito T <i>helper</i>

<i>M. bovis</i>	<i>Mycobacterium bovis</i>
<i>M. tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium Tuberculosis</i>
MMP	Metaloproteinases da Matriz
MTX	Metotrexate
NF- κ β	Fator Nuclear kappa-beta
NICE	<i>National Institute for Health and Clinical Excellence</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
ON	Óxido Nítrico
PAF	Fator de Ativação Plaquetária
PG's	Prostaglandinas
PCR	Proteína C Reativa
PPD	Proteína Derivada Modificada
QTF	Quantiferon
RD1	Região de diferença 1
SINAM	Sistema Nacional de Agravos de Notificação
TACE	TNF- α Converting Enzyme
TB	Tuberculose
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TNFR:FC	Receptores solúveis para o TNF
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
TReg	Células T regulatórias
TST	<i>Tuberculin Skin Test</i>
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
VPN	Valor Preditivo Negativo
VPP	Valor Preditivo Positivo
VSH	Velocidade de Hemossedimentação
VICAM-1	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1 Fisiopatologia da artrite reumatóide.....	18
Figura 2 Ações do TNF na artrite inflamatória.....	20
Figura 3 Distribuição do comprometimento articular na artrite reumatóide.....	22
Figura 4 Alterações radiográficas típicas da artrite reumatóide.....	23
Figura 5 Características do anti-TNF's.....	25
Figura 6 Fluxograma de avaliação do <i>status</i> de TB para pacientes candidatos à terapia com anti-TNF.....	27
Figura 7 Incidência estimada de TB no ano de 2005, de acordo com o relatório anual da OMS (2007).....	28
Figura 8 Taxa de incidência (por 100 mil hab.) de tuberculose em todas as formas. Pernambuco, Região Nordeste e Brasil, 1993-2004.	29
Figura 9 Diferenças na técnica de realização do QUANTIFERON TB e do T-SPOT. <i>TB</i>	34
Figura 10 Ação do TNF na formação e manutenção do granuloma.....	41
Figura 11 Fluxograma de atendimento dos pacientes e envio das amostras ao CPqAM.....	55
Figura 12 Técnica de inoculação do PPD.....	56
Figura 13 Leitura do PPD.....	56
Figura 14 Representação esquemática da separação de células.....	58
Figura 15 Representação esquemática da preparação da placa e leitura dos poços....	59
Figura 16 Placa com exemplos de resultados positivos e negativos.....	60
Figura 17 Comparação entre o número de resultados positivos nos 4 modelos de padrão ouro para ITBL e no T-SPOT. <i>TB</i> no grupo AR.....	66
Figura 18 Comparação entre o número de resultados positivos nos 4 modelos de padrão ouro para ITBL e no T-SPOT. <i>TB</i> no grupo COMP.....	66

LISTA DE QUADROS

	Pag.
Quadro 1 Fármacos utilizados no tratamento da artrite reumatóide.....	24
Quadro 2 Comparação entre as características dos três testes para diagnóstico da ITBL.....	36
Quadro 3 Trabalhos publicados no Congresso do ACR em 2007 comparando PPD e testes específicos para TB.....	48
Quadro 4 Combinação binária entre os resultados prováveis obtidos no teste T SPOT TB e o padrão ouro, PPD e/ou RX de tórax e/ou contato intradomiciliar com infecção tuberculosa.....	61

LISTA DE TABELAS

	Pag.
Tabela 1 Impacto da TB no Brasil nos anos de 2003 e 2005, segundo a OMS	29
Tabela 2 Incidência de infecção tuberculosa em pacientes com a AR que fazem uso de anti-TNF, comparado com pacientes com AR que não usam anti-TNF.....	40
Tabela 3 Critérios de inclusão e de exclusão do grupo AR	52
Tabela 4 Critérios de inclusão e de exclusão do grupo COM.....	53
Tabela 5 Descrição das variáveis clínicas no grupo AR.....	63
Tabela 6 Características dos indivíduos com e sem artrite reumatóide e análise de equivalência entre os grupos.....	64
Tabela 7 Sensibilidade e especificidade do T-SPOT. <i>TB</i> segundo os indivíduos com e sem artrite reumatóide, considerando como teste ouro o PPD.....	66
Tabela 8 Sensibilidade e especificidade do T-SPOT. <i>TB</i> segundo os indivíduos com e sem artrite reumatóide, considerando como teste ouro o resultado do PPD e/ou RX de tórax alterado.....	67
Tabela 9 Sensibilidade e especificidade do T-SPOT. <i>TB</i> segundo os indivíduos com e sem artrite reumatóide considerando o teste ouro o PPD + história de contato intra-domiciliar.....	67
Tabela 10 Sensibilidade e especificidade do T-SPOT. <i>TB</i> segundo os indivíduos com e sem artrite reumatóide, considerando como teste ouro o resultado do PPD e/ou RX de tórax alterado e/ou história de contato intra-domiciliar.....	68
Tabela 11 Comparação entre a sensibilidade, especificidade, VPP e VPN dos quatro modelos adotados como padrão ouro no grupo AR.....	68
Tabela 12 Comparação entre a frequência de ITBL diagnosticada pelo PPD e pelo T-SPOT. <i>TB</i> nos grupos com e sem AR.....	69

SUMÁRIO

	Pag.
1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Revisão da literatura.....	16
1.1.1 Artrite Reumatóide.....	16
1.1.1.1 <i>Conceito e Epidemiologia.....</i>	16
1.1.1.2 <i>Etiologia e fisiopatologia.....</i>	17
1.1.1.3 <i>Manifestações clínicas e diagnóstico.....</i>	22
1.1.1.4 <i>Tratamento.....</i>	23
1.1.2 Tuberculose.....	27
1.1.2.1 <i>Infecção tuberculosa latente.....</i>	30
1.1.2.2 <i>O teste cutâneo da Tuberculina.....</i>	32
1.1.2.3 <i>Novos testes para diagnóstico da ITBL.....</i>	33
1.1.3 Artrite Reumatóide e Tuberculose.....	38
1.1.3.1 <i>Epidemiologia da TB na AR.....</i>	38
1.1.3.2 <i>Bloqueio do TNF-α e TB.....</i>	41
1.1.3.3 <i>Diagnóstico da ITBL na AR.....</i>	43
1.1.3.4 <i>Efetividade das recomendações para utilização do anti-TNF no controle das infecções tuberculosas.....</i>	45
1.1.3.5 <i>Utilização de novos testes para diagnóstico de ITBL na AR.....</i>	47
1.2 Justificativa.....	48
2 PERGUNTA CONDUTORA.....	50
3 OBJETIVOS.....	51
4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS.....	52
4.1 Área e população do estudo.....	52
4.2 Definição das variáveis.....	53
4.3 Método.....	54
4.4 Análise Estatística.....	60
4.5 Considerações éticas.....	62
4.6 Limitações do estudo.....	62
5 RESULTADOS.....	63
6 DISCUSSÃO.....	70

7 CONCLUSÕES.....	77
REFERÊNCIAS.....	78
APÊNDICES.....	92
APÊNDICE A – TCLE grupo AR.....	93
APÊNDICE B – TCLE grupo COMP.....	96
ANEXOS	99
ANEXO A - Critérios de classificação da artrite reumatóide.....	100
ANEXO B - Ficha de Avaliação.....	101
ANEXO C - Carta de aprovação do Comitê de Ética do CPqAM.....	103
ANEXO D – Bula do <i>kit</i> T-SPOT.TB.....	104
Publicações.....	116

1 INTRODUÇÃO

1.1 Revisão da literatura

1.1.1 Artrite reumatóide

1.1.1.1 Conceito e epidemiologia

A artrite reumatóide (AR) é uma artropatia inflamatória crônica, auto-imune e altamente incapacitante, que apresenta uma prevalência que varia entre 0,5 e 1% na população geral e uma incidência entre 30 e 300/ 100.000 habitantes/ano. A idade de início ocorre entre 30 e 50 anos, e cerca de 20 a 30% das pessoas com diagnóstico de AR se tornam permanentemente incapacitadas três anos após o diagnóstico (ISAACS; MORELAND, 2002)

A severidade do comprometimento articular pode variar desde uma forma autolimitada até doença progressiva crônica, causando graus variados de destruição articular e conseqüente incapacidade. A sua distribuição é mundial, afeta todos os grupos étnicos, sendo duas vezes e meia mais freqüente em mulheres. Pode ocorrer em qualquer idade, porém apresenta um pico de incidência entre a quarta e quinta décadas de vida. Embora sua principal característica seja o comprometimento articular inflamatório, manifestações extra-articulares podem ocorrer, o que demonstra claramente ser a AR uma doença sistêmica, capaz de acometer múltiplos órgãos e sistemas (CHOU et al., 1994; CIMMINO et al., 1998; CARMONA et al., 2002; FIRENSTEIN, 2005; RINDFLEISCH; MULLER, 2005).

Existem poucos estudos realizados no Brasil com o objetivo de determinar a incidência/prevalência da AR. Em 1993 foi realizado um estudo multicêntrico para verificar a prevalência do AR em adultos em amostras populacionais das macro-regiões no Brasil, a qual variou entre 0,2 e 1,0%, semelhante ao encontrado em outros países (MARQUES NETO et al., 1993). Senna et al. (2004) realizaram um estudo transversal com 3038 pacientes, na cidade de Montes Claros (Minas Gerais) e estimaram a prevalência de AR em 0,5%. Outro estudo

realizado em Mogi das Cruzes (SP) com uma amostra populacional de japoneses e seus descendentes diretos demonstrou uma prevalência de apenas 0,2%, resultados muito semelhantes aos encontrados em outro estudo realizado no Japão, empregando a mesma metodologia, porém mais baixos do que o encontrado em outras etnias. Estes achados sugerem que podem existir fatores “protetores” para AR na população japonesa e que não sofreram alterações com as mudanças ambientais (SATO et al., 1990).

Dentre os principais fatores de risco para a AR temos os genéticos (associação com o antígeno de histocompatibilidade classe II HLA-DR1 e DR4), hormonais sexuais (óbvia predominância no sexo feminino) e idade (entre a quarta e quinta décadas de vida (SHANGA, 2000).

Além do alto grau de incapacidade gerado pela AR, o que gera custos elevados diretos e indiretos, sua taxa de mortalidade é mais elevada devido principalmente a infecções, doença renal, doença respiratória e atividade da própria doença. Deste modo, são de extrema importância o seu diagnóstico precoce e instituição de terapêutica adequada, a fim de minimizarmos as incapacidades e reduzir o impacto financeiro da doença sobre o sistema de saúde. Em algumas situações, quando a doença é refratária ao tratamento convencional, está indicada a utilização das chamadas drogas biológicas, que apresentam um custo bastante elevado. No entanto estes custos são compensados quando levamos em consideração a diminuição da perda de produtividade, incapacidade permanente e a redução do número de procedimentos cirúrgicos, como a colocação de próteses articulares (MARQUES et al., 2006).

1.1.1.2 Etiologia e fisiopatologia

Apesar de vários estudos terem sido realizados no sentido de se identificar a etiologia da AR, esta ainda não é totalmente conhecida. Sabe-se que existe uma interação entre susceptibilidade genética e fatores ambientais, e embora a contribuição de ambos seja necessária, esta pode não ser suficiente para a expressão clínica completa da doença. A estrutura dos antígenos de histocompatibilidade de classe II (HLA II) presentes na superfície das células apresentadoras de antígenos (CAA) é de grande importância na susceptibilidade e severidade da AR, responsáveis por cerca de 40% da influência genética, sendo os alelos mais freqüentes os da classe DRB1* (DRB1*0101 e DRB1*0401) (WEYAND et al., 1992). Acredita-se que indivíduos com um *background* genético favorável, possam ter como gatilho

imunológico uma infecção (vírus *Epstein Barr*, *Mycoplasma pneumoniae*, retrovírus e micobactérias), onde o foco seria a inflamação articular. Diante da susceptibilidade genética a sinovite persiste mesmo na ausência do agente agressor, uma vez que é desencadeada a autoimunidade com produção de Fator Reumatóide (FR) contra antígenos específicos da cartilagem e outros não articulares, formação de imunocomplexos e fixação do complemento, o que em associação com influências ambientais, fazem com que a doença se torne auto-perpetuante. A produção de FR, associada à formação de imunocomplexos e fixação do complemento contribuem para o aparecimento das manifestações extra-articulares (FIRENSTEIN, 2005).

A reação auto-imune, com ativação principalmente de linfócitos T CD4 e linfócitos B, além da liberação local de mediadores inflamatórios e citocinas são os principais fatores que levam à destruição articular (Figura 1) (ROSENBERG, 2005).

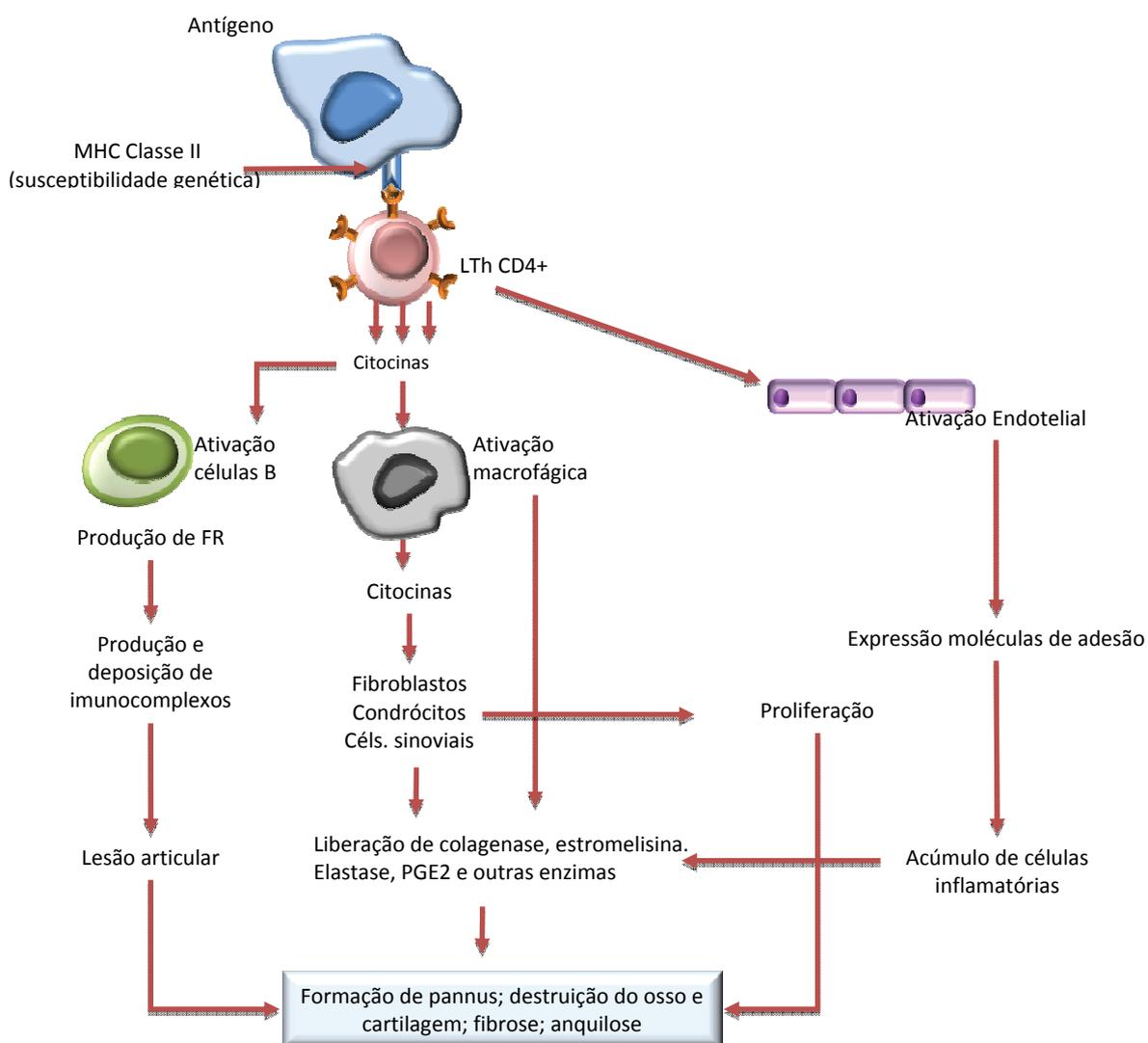


Figura 1 - Fisiopatologia da Artrite Reumatóide
Fonte: Rosenberg (2005)

A sinovite da AR é caracterizada por neoformação vascular, espessamento da camada basal e infiltrado inflamatório, constituído principalmente de células mononucleares, do tipo CAA em contato direto com linfócitos T, a maioria dos quais expressando fenótipo *helper*/memória (CD4+CD45R0+), caracterizando uma resposta do tipo Th1. Citocinas (Fator de Necrose Tumoral alfa – TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10), células regulatórias (CD8), moléculas co-estimulatórias (CD 80/CD86, CD 40) e proteínas da matriz celular trabalham em conjunto no sentido de regular a função das células T na AR (PANAYI; CORRIGAL; PTIZALIS, 2001; ROSENBERG, 2005).

O ambiente de inflamação crônica em que as células T operam dentro da sinóvia reumatóide exerce grande influência em sua função. Existe um paradoxo entre a ativação destas células na inflamação e sua aparente pouca capacidade proliferativa. Ocorre uma diminuição da resposta da hipersensibilidade cutânea tardia *in vivo* (HELLIWELL; PANAY; UNGER, 1984) e da proliferação de células T em resposta a antígenos *in vitro*, quando comparado com controles normais, o que justificaria uma resposta deficiente à inoculação da tuberculina (PANAYI; CORRIGAL; PITZALIS, 2001). Os mecanismos envolvidos nesta resposta reduzida são desconhecidos, embora alguns tenham sido propostos, como o envolvimento da Interleucina 10 (IL-10) e do TNF. A exposição crônica a estas duas citocinas promoveria uma regulação negativa na função das CAA's e dos linfócitos T CD4+ (COPE et al., 1994). Corrigal, Garyfallos e Panayi (1999) propuseram que a resposta deficiente ao PPD por células T periféricas na AR seria mais o resultado de um aumento relativo da proporção IL-10: IL-2 do que um aumento da concentração absoluta de IL-2. Cope et al. (1994) demonstraram que a terapia com droga inibidora do TNF em pacientes com AR melhora significativamente a resposta das células T no reconhecimento de antígenos, tanto *in vivo* quanto *in vitro*.

Papel do TNF- α na AR

O TNF- α , também conhecido como caquexina ou caquectina, é uma citocina pleiotrópica envolvida na inflamação sistêmica e é um membro do grupo de citocinas que estimulam as reações de fase aguda, que incluem linfotóxina- α , conhecida previamente como TNF- β , Fas ligante, CD40 ligante e o ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa-beta (NF- $\kappa\beta$) (TUTUNCU; KAVAGANAUGH, 2005).

O TNF- α pode ser produzido por vários tipos de células; contudo, em condições de inflamação é produzido primariamente por macrófagos em resposta a vários tipos de estímulos pró-inflamatórios (Figura 2).

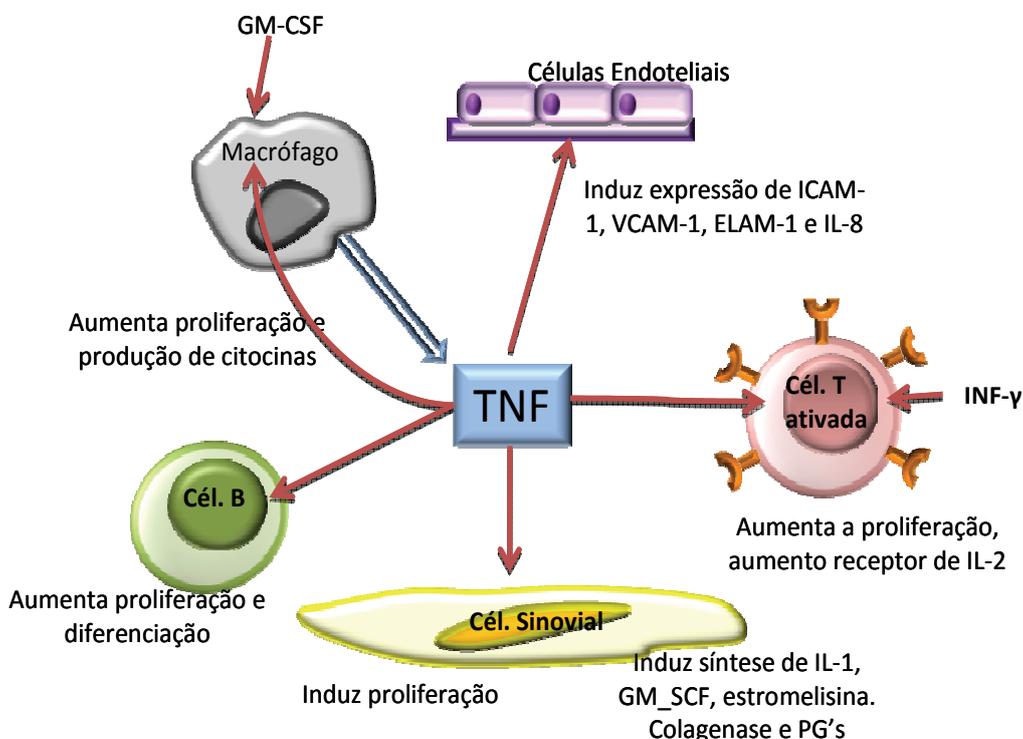


Figura 2 - Ações do TNF na artrite inflamatória

GM-CSF - Granulocyte Macrophage - Colony Stimulator Factor; ICAM - Intercellular Adesion Molecule; VCAM - vascular cell adhesion molecule-1; ELAM-1 - Endothelial cell leukocyte adhesion molecule-1; IL-8 - Interleucina-8; IL-1 - Interleucina-1; IL-2 - Interleucina-2; PG's - Prostaglandinas; Cel. - Célula.

Fonte: Tutuncu; Kavaganaugh (2005)

O TNF- α humano é sintetizado e expresso como uma proteína transmembrana plasmática de 26 k-D e é clivado por uma metaloproteinase específica (*TNF- α converting enzyme* ([TACE]). Após a clivagem proteolítica, é convertido em uma proteína solúvel de 17-kD, oligomerizada para a forma de homotrímero ativo. As ações do TNF- α são mediadas através de dois receptores celulares distintos estruturalmente: TNF-RI (55 kD; CD120a) e TNF-RII (75 kD; CD120b). Estes dois receptores diferem em suas habilidades de ligação e propriedades de sinalização, o que reflete em diferenças em suas funções primárias. A ligação do TNF- α ao seu receptor pode iniciar uma série de cascatas inflamatórias, que incluem a ativação de fatores de transcrição (como o NF- κ B), proteinoquinasas (enzimas intracelulares que mediam a resposta ao estímulo inflamatório) e proteases (enzimas que clivam peptídeos, como as caspases) (BAZZONI; BEUTLER, 1996).

Primariamente caracterizado como um fator que induzia a necrose de células tumorais foi subseqüentemente reconhecido como mediador de uma série de atividades inflamatórias e imuno-regulatórias. O TNF- α facilita o acúmulo de linfócitos, neutrófilos e monócitos no local da inflamação por estímulo da expressão endotelial de várias moléculas de adesão. Isto também modula o crescimento, diferenciação e metabolismo de diferentes tipos celulares, além de estimular a síntese de várias outras citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e fator estimulador de colônia granulócito-macrófago – GM-CSF), quimiocinas (IL-8) e outros mediadores inflamatórios (prostaglandinas, leucotrienos e fator de ativação plaquetária - PAF). O estímulo de macrófagos e fibroblastos para a produção de metaloproteinases da matriz (MMP), como a colagenase e estromolisina leva ao dano estrutural da cartilagem e do osso subcondral. Além disso, o TNF- α pode mediar diretamente dor, febre e caquexia (TUTUNCU; KAVAGANAUGH, 2005).

Existem uma variedade de citocinas e outros mediadores inflamatórios expressos na articulação em pacientes com AR, implicados em sua patogênese, como a IL-1, IL-6, GM-CSF e quimiocinas. No entanto, o TNF tem um papel central no processo inflamatório da AR. Isto pode ser explicado pela expressão do TNF e de seus dois receptores em vários locais da membrana sinovial, incluindo a junção cartilagem/pannus. A expressão tissular destas moléculas se reflete no líquido sinovial, onde são encontrados elevados níveis do TNF e formas solúveis de seus receptores (CHARLES et al., 1999).

Em um estudo usando cultura de células sinoviais, onde ocorria a produção espontânea de várias citocinas, a neutralização do TNF promovia *down regulation* na produção de IL-1, IL-6, IL-8 e GM-CSF, e estes achados levaram os autores a propor o TNF como alvo terapêutico na AR (BUCHAN et al., 1988; CHARLES et al., 1999).

A demonstração direta da importância do TNF na artrite inflamatória *in vivo* foi observada primeiramente em modelos de artrite murina induzida por colágeno. Experimentos objetivando o bloqueio da produção endógena de TNF demonstraram que a administração de anticorpos neutralizantes do TNF ou de receptores solúveis para TNF (TNFR:Fc) após o início da doença levava a uma melhora da doença articular (THORBECKE et al., 1992; WILLIAMS; FELDMANN; MAINI, 1992; WOOLEY et al., 1993). Estes achados levaram à conclusão de que o TNF seria o alvo terapêutico ideal na AR e deram o racional para o início dos estudos clínicos com anticorpos inibidores do TNF quiméricos (humano/murino) em pacientes com AR (CHARLES et al., 1999).

1.1.1.3 Manifestações clínicas e diagnóstico

A AR pode acometer pacientes em qualquer idade, porém é mais comum na fase reprodutiva, sendo mais freqüente no sexo feminino (3:1). O quadro clínico é caracterizado por uma poliartrite de início insidioso, podendo afetar qualquer articulação sinovial, com predileção de envolvimento das pequenas articulações (interfalangeanas proximais, metacarpofalangeanas, punhos e metatarsfalangeanas) (Figura 3), com um potencial deformante variável (O'DELL, 2007).

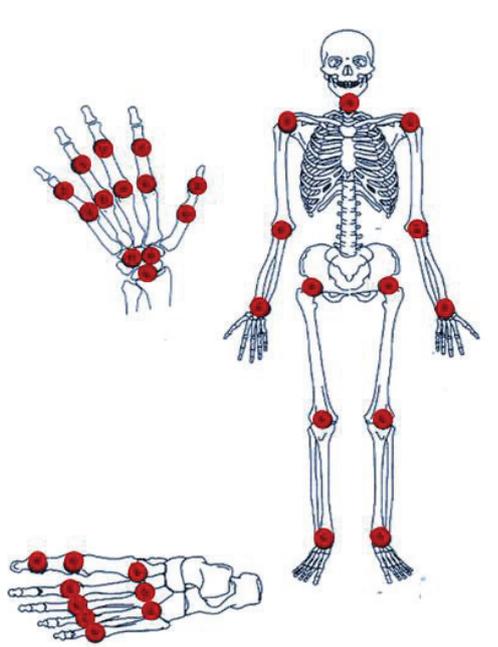


Figura 3 - Distribuição do comprometimento articular na Artrite Reumatóide.

Fonte: O'Dell (2007)

A rigidez matinal ou pós-reposo é característica da artrite inflamatória sendo bastante comum na AR, chegando a ter uma duração de várias horas. Manifestações extra-articulares, como febre baixa, fadiga, perda de peso ocorrem freqüentemente, e assim como os nódulos reumatóides, vasculites, envolvimento ocular, cardíaco, pulmonar e neurológico, são mais comuns em pacientes com FR positivo (O'DELL, 2007).

O diagnóstico é essencialmente clínico, necessitando para tal uma história clínica adequada e exame físico completo. Os achados laboratoriais mais freqüentes são anemia de doença crônica e elevação dos reagentes de fase aguda (velocidade de hemossedimentação –

VSH e proteína C reativa – PCR). O FR é positivo em cerca de 50% dos casos já na apresentação e pode vir a se tornar positivo em 20 a 35% deles após seis meses de diagnóstico, não sendo essencial para o diagnóstico. O Anti-CCP (anti peptídeo cíclico citrulinado) apresenta uma melhor especificidade do que o FR, e pode estar presente em 60 a 70% dos pacientes no momento do diagnóstico. Dentre as principais manifestações radiológicas podemos citar osteoporose justa-articular, erosões marginais, cistos subcondrais, diminuição do espaço articular e anquilose óssea (Figura 4).

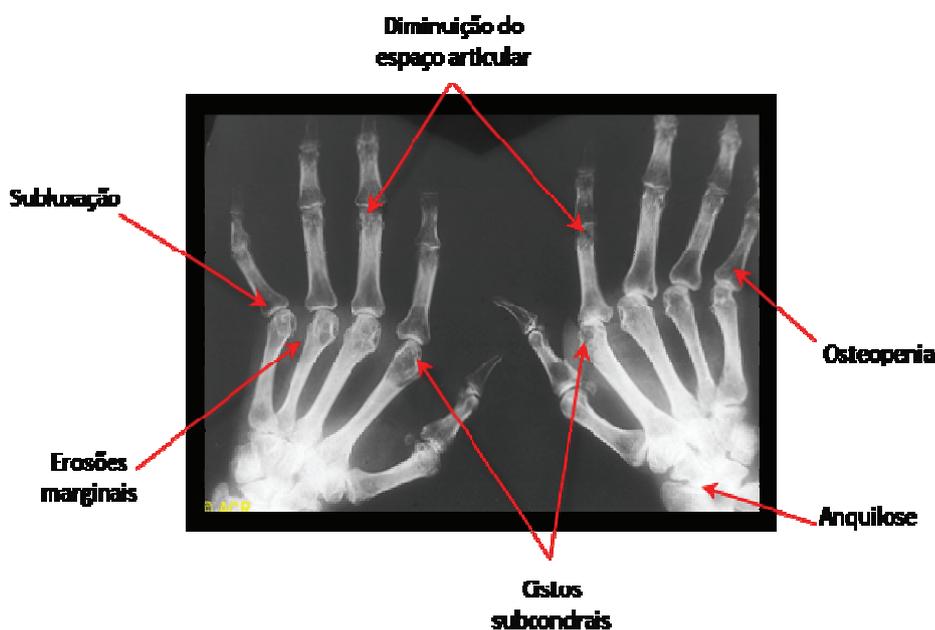


Figura 4 - Alterações radiográficas típicas da Artrite Reumatóide.
Fonte: coleção de slides do American College of Rheumatology

Os critérios de classificação do *American College of Rheumatology* (ACR) (ARNET et al., 1988) podem ser utilizados na prática clínica (ANEXO A), embora não devam ser utilizados com muita rigidez, pois podem levar a um erro diagnóstico (O'DELL, 2007).

1.1.1.4 Tratamento

Na última década, as estratégias de tratamento para pacientes com AR mudaram drasticamente. Os pacientes passaram a ser tratados mais precoce e agressivamente do que no

passado, além da utilização das novas opções terapêuticas disponíveis. Estas mudanças aumentaram a complexidade do manuseio de pacientes com AR, além de terem modificado a evolução, o prognóstico e a forma com que são avaliados atividade, curso da doença, prognóstico e remissão clínica (VAN RIEL; FRANSEN, 2007).

O diagnóstico precoce e o início imediato do tratamento são fundamentais para o controle da atividade da doença e para prevenir incapacidade funcional e lesão articular irreversível. Os principais objetivos do tratamento do paciente com AR são: prevenir ou controlar a lesão articular, prevenir a perda de função e diminuir a dor, tentando maximizar a qualidade de vida desses pacientes. A remissão completa, apesar de ser o objetivo final do tratamento, raramente é alcançada (VAN RIEL; FRANSEN, 2007; O'DELL, 2007).

Para que seja possível alcançarmos os objetivos do tratamento da AR, podemos utilizar medidas não farmacológicas (como educação do paciente, fisioterapia e terapia ocupacional) e farmacológicas. Os fármacos utilizados no tratamento da AR podem ser observados no Quadro 1.

	Ação	Principais efeitos colaterais	Considerações
AINH	Alívio sintomático	Gastrointestinal e renal	Não devem ser utilizados sozinhos no tratamento da AR
Corticosteróide	Alívio sintomático e da progressão radiológica	Osteoporose, HAS, obesidade	Devido ao rápido início de ação devem ser utilizados para controlar a inflamação sinovial. Utilizar DMARD associado
Metotrexate (MTX)	Retarda a progressão radiológica e controla a atividade da doença	Úlceras orais, náuseas, toxicidade hepática, pneumonite	DMARD de escolha para início do tratamento. Iniciar com 10 mg/semana. A dose máxima (25 mg/semana) deve ser alcançada em 3 meses do início da terapia.
Antimaláricos (cloroquina e hidroxicloroquina)	Controle da atividade da doença	Toxicidade retiniana (cloroquina)	Usada em associação ao MTX
Sulfassalazina	Controle da atividade da doença	Gastrointestinal e medular	Usada em associação ao MTX e aos antimaláricos
Leflunomida	Retarda a progressão radiológica e controla a atividade da doença	Diarréia, alopecia, hepatotoxicidade	Deve ser utilizada após a falha terapêutica do MTX
Biológicos Anti-TNF's <i>Infliximabe</i> <i>Etanercepte</i> <i>Adalimumabe</i> Outros biológicos <i>Abatacepte</i> <i>Rituximabe</i>	Bloqueio de citocinas, especialmente TNF Modulador de célula T Anti-CD20	Aumento da incidência de infecções (TB com o uso do anti-TNF)	Devem ser utilizados como drogas de segunda linha. Apresentam perfis de eficácia semelhantes.

AINH – Anti-inflamatório não hormonal; DMARD – *Disease modification anti-rheumatic drugs*

Quadro 1 – Fármacos utilizados no tratamento da AR

Fonte: O'Dell (2007)

A era Anti-TNF

A utilização do TNF- α como alvo terapêutico teve início no final da década de 80, para tratamento de pacientes com a síndrome do choque séptico. Por ser o TNF- α uma citocina mediadora primária na patogênese da sepse, acreditou-se que o bloqueio da mesma poderia trazer benefícios no tratamento destes pacientes. Vários estudos randomizados controlados foram realizados com o intuito de comprovar esta hipótese (PORTER, 1997), porém os resultados foram desapontadores, com prejuízos superando benefícios, e a indicação foi abandonada. Outros alvos terapêuticos foram tentados, porém a resposta mais promissora foi alcançada no tratamento das doenças auto-imunes, particularmente da AR (BAUMGARTNER; CALANDRA, 1999).

Hoje existem mais de 400.000 pacientes utilizando os anti-TNF's disponíveis (infliximabe, etarnecepte e adalimumabe – Figura 5) para indicações que incluem não só a AR, mas também artrite idiopática juvenil (AIJ), doença inflamatória intestinal (DII), artrite psoriásica (APso) e espondilite anquilosante (EA). A introdução destes novos fármacos provocou uma verdadeira revolução no tratamento das doenças articulares inflamatórias não vista desde a descoberta dos corticosteróides em 1948 (DESAI; FURST, 2006). Estas três drogas apresentam um perfil de eficácia semelhante, demonstrando um maior controle da atividade da doença e índices de remissão, com maior inibição do dano articular e da progressão radiológica, do que o que observado com outras drogas modificadoras da doença (DMARD's), incluindo o MTX (RUSSO; POLOSA, 2005; CHEN et al., 2006).

Desde a aprovação para utilização dos anti-TNF's existe a preocupação com a possibilidade de um risco aumentado de infecção, uma vez que o TNF é uma citocina fundamental para combate às infecções e nas interações, regulações e modulações do sistema imune. Embora estudos clínicos realizados antes da comercialização dos produtos tenham sugerido um risco estimado semelhante ao da utilização isolada do MTX, sabe-se hoje que realmente há uma maior incidência de infecções com a utilização destas medicações (BONGARTZ et al., 2006).

Anti TNF	Via de administração	Composição	Ação
Infliximabe	EV	Anticorpo monoclonal quimérico (humano-camundongo)  5% humano	Liga-se ao receptor do TNF na parede celular
Adalimumabe	SC	Anticorpo monoclonal totalmente humano  100% humano	Liga-se ao receptor do TNF na parede celular
Etanercepte	SC	Proteína de fusão  100% humano	Receptor solúvel do TNF circulante impedindo sua ligação ao receptor da célula

EV – endovenoso; SC – subcutâneo

Figura 5 – Características do anti-TNF's

Fonte: Russo; Polosa (2005)



Os microorganismos responsáveis pelas complicações infecciosas associadas ao uso dos Anti-TNF's são geralmente patógenos intracelulares ou aqueles que comumente existem em doenças crônicas, em estado latente. Dentre as infecções crônicas uma das que vem causando maior preocupação é a tuberculose (TB), uma vez que o TNF tem papel fundamental na formação e manutenção do granuloma (LONG; GARDAM, 2003; DESAI; FURST, 2006). Em modelos animais de infecção tuberculosa latente (ITBL), anticorpos anti-TNF causam reativação de TB, sugerindo que os antagonistas do TNF podem aumentar a susceptibilidade à doença (EHLERS, 2005).

O aumento vertiginoso do número de casos de TB em países como França, Inglaterra e Estados Unidos, alertou as autoridades sobre o risco de reativação tuberculosa e a partir de 2001 passou a ser obrigatória a realização de um *screening* para ITBL antes do início da terapia com anti-TNF. Este deve constar de história clínica sobre contato anterior com TB ou infecção passada, realização do teste de Mantoux e RX de tórax (KEANE, 2005). O Brasil, país com alta incidência de tuberculose (de acordo com a Organização Mundial de Saúde – OMS, em 2005 a incidência de TB no Brasil foi de 60/100.000 hab.), também adotou a

realização do *screening* obrigatório para todos os pacientes que vão realizar terapia com droga inibidora do TNF (MANGINE; MELO, 2003). A Figura 6 mostra o fluxograma adotado pela Sociedade Brasileira de Reumatologia para avaliação da ITBL.

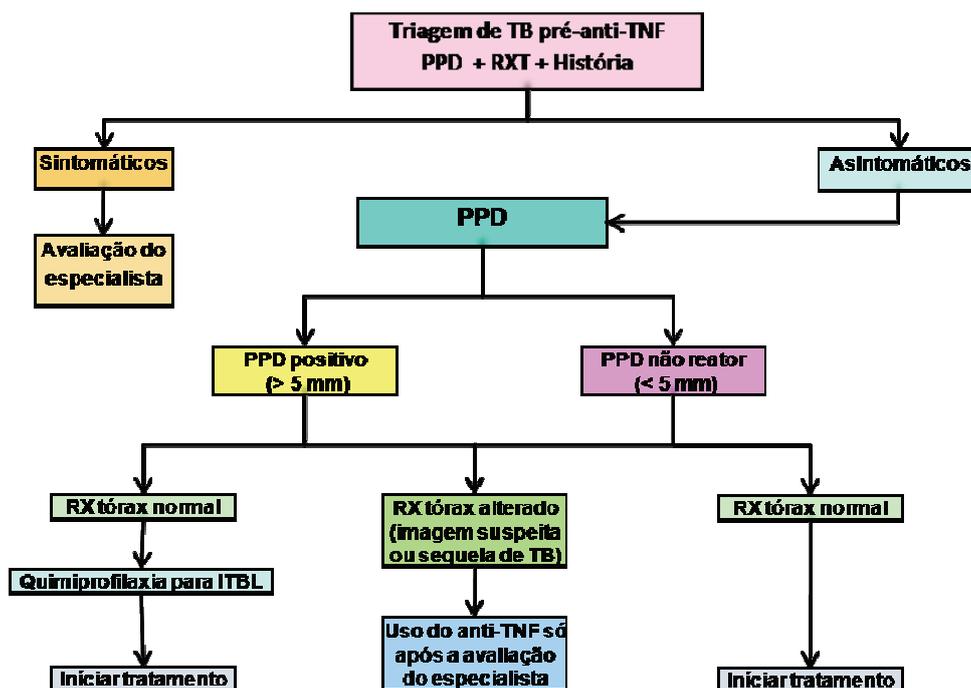


Figura 6 – Fluxograma de avaliação do *status* de TB para pacientes candidatos à terapia com anti-TNF
Fonte: Mangine; Melo (2003).

1.1.2 Tuberculose

A OMS estima que mais de um terço da população mundial encontra-se infectada com o *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). De acordo com o relatório anual publicado em 2005, a incidência estimada no ano de 2003 foi de 8.8 milhões de novos casos (140/100.000 hab.), dos quais 3.9 milhões (62/100.000) apresentavam positividade do escarro para o bacilo e 674.000 (11/100.000) estavam infectados com vírus da imunodeficiência humana (HIV). A prevalência foi de 15.4 milhões de casos (245/100.000), dos quais 6.9 milhões apresentavam baciloscopia positiva. Cerca de 1,7 milhões de pessoas e (28/100.000)

morreram de TB in 2003, incluindo aquelas co-infectadas pelo HIV (229.000) (Organização Mundial de Saúde, 2005). No relatório de 2007, que mostra o panorama mundial em 2005, a OMS descreve uma tendência para queda da prevalência e do número de mortes por TB. A incidência foi estável ou esteve em queda na maioria dos seis continentes, porém na África, Oeste do Mediterrâneo e Sudeste da Ásia foi observado um aumento do número de casos novos. Na Figura 7 pode-se observar a incidência estimada da TB nos diferentes territórios em 2005 (Organização Mundial de Saúde, 2007).

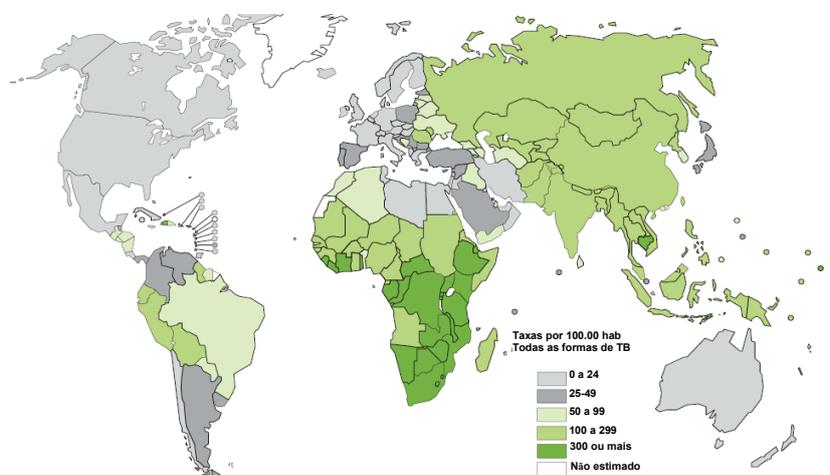


Figura 7 – Incidência estimada de TB no ano de 2005.
Fonte: Organização Mundial de Saúde, 2007

No Brasil, a TB ainda é considerada um problema de saúde pública, pois apresenta elevadas taxas de incidência e prevalência, sendo uma importante causa de mortalidade. De acordo com a OMS, ocorrem 110 mil casos novos anuais da doença no país, com uma taxa de incidência, em 2003, de 62 por 100 mil habitantes, situando o país na 15^a. posição entre os 22 países mais afetados pela doença (Organização Mundial de Saúde, 2005). Bierrenbach et al. (2007) estudaram a incidência de TB no Brasil, em 2004, baseados em dados do Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAM), segundo unidade geográfica. Neste estudo, a incidência calculada foi de 41/100.000 habitantes, com 74.540 casos novos notificados. Na Tabela 1 podemos observar as taxas de incidência, prevalência e mortalidade da doença nos anos de 2003 e 2005, de acordo com a OMS. (Organização Mundial de Saúde, 2005 e 2007).

Tabela 1 - Impacto da TB no Brasil nos anos de 2003 e 2005

	Incidência			Prevalência		Mortalidade	
	População	N	/100.000	N	/100.000	N	/100.000
	N(1000)	(1000)	hab.	(1000)	hab.	(1000)	hab.
2003	178.400	110	62	164	92	15	8
2005	186.405	111	60	142	76	15	7,5

Fonte: Organização Mundial de Saúde, 2005 e 2007

No estado de Pernambuco, em 2004, foram registrados no SINAM 4.583 casos novos, representando 94,8% dos casos esperados. A incidência (por 100 mil habitantes) foi 55,6 para casos de todas as formas e 28,7 para casos bacilíferos (Sistema nacional de vigilância em saúde, 2006). Ainda em 2004, dentre os estados da região Nordeste, Pernambuco ocupou o primeiro lugar em taxa de incidência de todas as formas de TB, ficando em quinto lugar dentre todos os estados do país, superado apenas por Rio de Janeiro, Amazonas, Roraima e Amapá (BIENRREBACH et al., 2007). Na figura 8 pode ser observada a comparação entre as taxas de incidência no Brasil, região Nordeste e Pernambuco no ano de 2004.

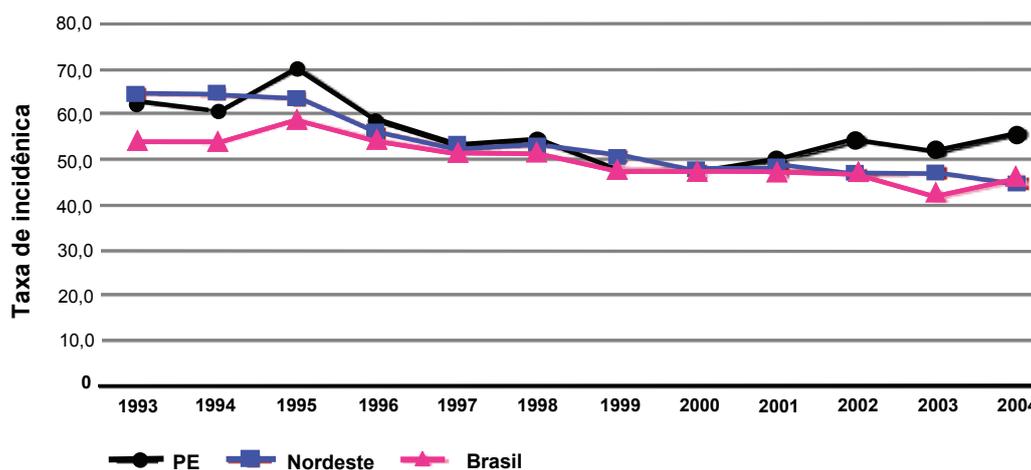


Figura 8 - Taxa de incidência (por 100 mil hab.) de tuberculose em todas as formas. Pernambuco, Região Nordeste e Brasil, 1993-2004.
Fonte: Sistema nacional de vigilância em saúde, 2006.

Para o controle mais adequado da doença, o elemento mais importante é o diagnóstico imediato e acurado, tendo como padrão ouro o exame clínico, combinado com o exame microscópico direto do escarro e a cultura da bactéria. Uma vez que a cultura do *M. tuberculosis* pode demorar cerca de oito semanas para demonstrar crescimento, e em 10 a 20% dos casos, o bacilo não cresce adequadamente, o diagnóstico fica baseado na maioria das vezes, em achados clínicos e alterações radiológicas, o que leva a um atraso na confirmação de casos de suspeita de TB. Esta forma de abordagem se torna ainda mais complicada nos casos de identificação de tuberculose latente, uma vez que esta forma de identificação só ocorre após o aparecimento de sintomas clínicos (ANDERSEN et al., 2000).

1.1.2.1 Infecção tuberculosa latente

De acordo com a *American Thoracic Society*, classifica-se um indivíduo como portador de ITBL quando este apresenta um PPD positivo, análise bacteriológica negativa (se realizada) e não apresenta nenhuma evidência clínica ou radiográfica de tuberculose ativa (*American Thoracic Society*, 2000)

Estima-se que um terço da população mundial é portadora de ITBL, o que pode potencialmente progredir no futuro para doença ativa e se transformar numa epidemia. Nos Estados Unidos, a prevalência estimada é de 4,2%, estando relacionada com a etnia (mexicanos e afro-americanos) e com a pobreza (BENNETT et al., 2007). Em um estudo realizado no Brasil, no estado do Rio de Janeiro, com a amostra constituída por estudantes de medicina de cinco escolas médicas em três cidades (A, B e C) foram verificados diferentes taxas de incidência. A prevalência de ITBL encontrada foi de 6,9%, estando associada principalmente ao sexo masculino e a incidência de TB na cidade onde a escola médica estava situada. Quando os autores fizeram a estratificação por número de anos no curso médico a prevalência se mostrou mais elevada no último ano do curso (TEIXEIRA et al., 2005).

Na ITBL o indivíduo apresenta um pequeno número de bacilos latentes viáveis que estão contidos dentro dos granulomas. A taxa de replicação do bacilo é lenta e possivelmente, na maioria das pessoas, nunca causará doença. No entanto, quando isso ocorre os índices de morbi-mortalidade são bastante elevados (KEANE, 2005).

A presença de ITBL deve ser considerada diante das seguintes situações (FURST et al., 2002; PROVENZANO; FERRANTE; SIMON, 2005):

- Ausência de sinais e sintomas de infecção, na presença de qualquer um dos seguintes fatores de risco:
 - a. História inequívoca de TB tratada no passado;
 - b. Infecção pelo HIV;
 - c. Imunossupressão;
 - d. Contato intra-domiciliar com caso de TB;
 - e. Presença de doenças que facilitem a reativação da infecção associados a um PPD (Proteína Derivada Modificada) positivo ou alterações radiográficas compatíveis com seqüela de TB (lesões nodulares calcificadas, fibrose apical ou cicatriz pleural)

O tratamento profilático com pelo menos uma droga anti-tuberculosa por alguns meses reduz significativamente o risco de progressão para doença nas pessoas infectadas em 75%, diminuindo assim sua morbi-mortalidade (WHALEN, 2005). Um estudo realizado no Canadá avaliou o risco de desenvolvimento de infecção tuberculosa ativa dentre contatos com casos da doença. A incidência de TB foi elevada nos contactantes intradomiciliares, crianças e imunodeprimidos, independente do tamanho da reação ao PPD, sugerindo que estes grupos podem se beneficiar com a quimioprofilaxia. O tratamento de formas latentes de infecção tuberculosa torna-se desta forma parte fundamental da estratégia de controle da doença (BLUMBERG; LEONARD; JASMER, 2005; MORAN-MENDONZA et al., 2007).

No Brasil, de acordo com II Consenso Brasileiro de Tuberculose, publicado em 2004 (SILVA JR, 2004), a quimioprofilaxia com isoniazida deve ser realizada durante 6 meses, nos seguintes grupos de pacientes:

- a. Recém nascidos co-habitantes de um foco de TB ativa;
- b. Crianças menores de 15 anos, contactantes de TB ativa, com PPD ≥ 10 mm nos não vacinados com BCG (Bacilo de Calmete-Guérin), ou com PPD ≥ 15 mm, nos vacinados;
- c. Indivíduos com viragem tuberculínica recente (acima de 10 mm, nos últimos 12 meses);
- d. População indígena, contactante de TB ativa, com PPD reator forte, independente da idade e do estado vacinal, sem sinais de doença ativa;
- e. Imunodeprimidos por uso de drogas ou por doença imunossupressora;
- f. Contactantes intra-domiciliares de caso de TB ativa, sob criteriosa avaliação médica;
- g. Reatores fortes à tuberculina, sem sinais de doença ativa, mas portadores de condições clínicas que favorecem a infecção: alcoolismo, *diabetes mellitus* insulino-

dependente, nefropatia crônica, silicose, sarcoidose, linfoma, uso prolongado de corticosteróide em dose de imunossupressão, quimioterapia anti-neoplásica, radiografia de tórax compatível TB inativa, sem história de quimioprofilaxia;

h. Indivíduos infectados pelo vírus HIV, com PPD \geq 5 mm.

1.1.2.2 O teste cutâneo da Tuberculina

O teste da tuberculina foi descrito pela primeira vez por Robert Koch, em 1891, como um preparado que utilizava culturas de *M. tuberculosis*, injetado sob via subcutânea. Em 1908, Charles Mantoux, um médico francês que trabalhava com Koch, apresentou seu primeiro estudo de injeções intradérmicas à Academia Francesa de Ciências, intitulado “*Intradermo-reaction de la tuberculine*”. A partir desta data o teste intradérmico passou a substituir o subcutâneo, recebendo o epônimo de teste de Mantoux.

O teste cutâneo da tuberculina, que utiliza a preparação padrão de Proteína Derivada Purificada (PPD) é utilizado desde 1930 para determinar quem está infectado pelo *M. tuberculosis*. Ele contém uma mistura de antígenos que induz a uma reação de hipersensibilidade tardia e reflete a imunidade celular dirigida contra o bacilo e, apesar de suas conhecidas limitações na sensibilidade e na especificidade, continua sendo utilizado como critério *standard* para o diagnóstico de ITBL. Embora seja ocasionalmente utilizado no diagnóstico de infecção sintomática, seu uso primário é para a detecção de ITBL (FURIN; JOHNSON, 2005). No entanto, a prática da realização de um *screening* para TB utilizando o PPD é um tanto desanimadora, devido à baixa especificidade do teste, pois tanto a vacinação com ao BCG quanto a exposição à micobactérias não tuberculosas produzem uma resposta similar àquela induzida pela infecção pelo *M. tuberculosis* (ANDERSEN et al., 2000).

O tamanho da reação ao PPD é usado para classificar os indivíduos de acordo com a probabilidade de ter ou não a infecção. Dentre suas limitações, podemos citar o fato de que, por ser mensurado em uma escala contínua, não tem o valor inerente de indicar a presença ou a ausência de infecção. Deste modo, foram estabelecidos critérios usando ponto de corte, acima do qual o PPD é considerado positivo (ou seja, indica a presença de ITBL) (SILVA JR, 2004; *Center for Disease Control and Prevention*, 2000).

O resultado, registrado em milímetros classifica-se como:

- 0 a 4 mm - não reator: indivíduo não infectado pelo *M. tuberculosis* ou com hipersensibilidade reduzida;
- 5 a 9 mm - reator fraco: indivíduo vacinado com BCG ou infectado pelo *M. tuberculosis* ou por outras micobactérias;
- 10 mm ou mais - reator forte: indivíduo infectado pelo *M. tuberculosis*, que pode estar doente ou não, e indivíduos vacinados com BCG nos últimos dois anos.

Algumas circunstâncias podem interferir no resultado da prova tuberculínica levando a resultados falso-negativos, como as doenças imunossupressoras (sarcoïdose, síndrome da imunodeficiência adquirida, neoplasias e doenças linfoproliferativas), tratamentos com corticosteróides e drogas imunossupressoras, gravidez, crianças abaixo de dois anos e idosos acima de 65 anos. Nos indivíduos infectados pelo vírus HIV, considera-se reator aquele que apresenta endureção de 5 mm ou mais. Naqueles vacinados com BCG, sobretudo entre aqueles imunizados há até dois anos, a prova tuberculínica deve ser interpretada com cautela porque, em geral, apresenta reações de tamanho médio podendo alcançar 10 mm ou mais (SILVA JR, 2004). Além disso, a variabilidade de leitura inter e intra-observador, a necessidade de pessoal treinado para a leitura e do retorno do paciente para a leitura da endureção, tornam ainda mais complicada a sua utilização como teste de triagem (PAI et al., 2005)

1.1.2.3 Novos testes para diagnóstico da ITBL

A identificação de regiões do genoma do *M. Tuberculosis* que estão ausentes no BCG e em outras micobactérias ambientais permitiu a oportunidade do desenvolvimento de novas ferramentas diagnósticas para ITBL, sem os problemas de especificidade apresentados pelo PPD. A região de diferença 1 (RD1), presente em várias espécies de micobactérias, é deletada primariamente durante a transformação do *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) para BCG, e conseqüentemente os genes decodificados por ela. A RD1 compreende os genes Rv3871 a Rv3879c, o que inclui os genes para o 6 kDa alvo antigênico precocemente-secretado (*early-secreted antigenic target* – ESAT-6) e a proteína homóloga L45 – cultura filtrada de proteína 10 (CFP-10). As duas proteínas codificadas por estas regiões, ESAT-6 e

CFP-10, são utilizadas como antígenos específicos, devido à sua ausência na vacina BCG e outras micobactérias. Estas induzem uma forte resposta imune das células T em modelos experimentais, levando à produção de interferon gama (IFN- γ), o qual é quantificado pelo teste (PITTIUS, 2001; SILVA JR, 2004; MEIER et al., 2005; PAI et al., 2005; WHALEN et al., 2005).

As primeiras versões destes testes (QuantiFeron-TB® - Cellestis Limited, Carnegie, Austrália), aprovadas pelo *Food and Drug Administration* (FDA) em 2001, utilizavam o PPD como um antígeno estimulador, o que levava aos mesmos problemas de especificidade vistos nos testes cutâneos. Devido a isto, este ensaio foi substituído por outro, o Quantiferon-TB-Gold®, que usa ESAT-6 e CFP-10 no lugar do PPD. O Quantiferon-TB-Gold utiliza sangue total e quantifica a presença do IFN- γ através da técnica de ELISA (*Enzyme-Linked-Immunesorbent Assay*) (PAI et al., 2005).

O teste T-SPOT.TB® (Oxford Immunotec, Oxford, Inglaterra) usa um ensaio de ELISPOT (*Enzyme-Linked-Immunospot Assay*) utilizando células mononucleares periféricas produtoras de IFN- γ , em resposta à estimulação com ESAT-6 e CFP-10. Este teste já está aprovado na Europa e hoje é recomendado pela *National Institute for Health and Clinical Excellence* (NICE) como teste de *screening* ideal para detecção de ITBL na Inglaterra e País de Gales (NICE, 2006). Além destes dois *kits* comerciais, existe uma série de outros desenvolvidos em laboratórios de pesquisa, não disponíveis comercialmente (PAI; RILEY; COLFORD, 2004).

Embora os testes realizados *in vitro* para tuberculose sejam baseados na quantificação da produção INF γ , as características operacionais dos dois são diferentes. O período de incubação pode variar de poucas horas (T-SPOT.TB e QUANTIFERON) a alguns dias (em alguns testes não comerciais); podem ser utilizados o sangue total (QUANTIFERON) ou células mononucleares periféricas (T-SPOT.TB); o antígeno utilizado pode ser o PPD (como nas primeiras versões do QUANTIFERON) enquanto outros utilizam os antígenos RD-1 (T T-SPOT.TB e QUANTIFERON-TB-GOLD); a técnica utilizada pode ser ELISA ou ELISPOT. As diferenças na técnica realização dos dois testes podem ser visualizadas na Figura 9.

Apesar de haver uma boa correlação entre os dois testes, os resultados encontrados na prática clínica podem ser discordantes. Em um estudo realizado com o objetivo de comparar o desempenho dos dois testes, o número de resultados indeterminados foi muito mais elevado para QUANTIFERON-TB-GOLD do que para o T-SPOT.TB e os resultados indeterminados dos dois testes estavam associados com imunossupressão. Deste modo, a

escolha de qual deles deve ser usado deverá ser baseada na população a ser testada, o objetivo do teste e os recursos financeiros disponíveis (FERRARA et al., 2006)

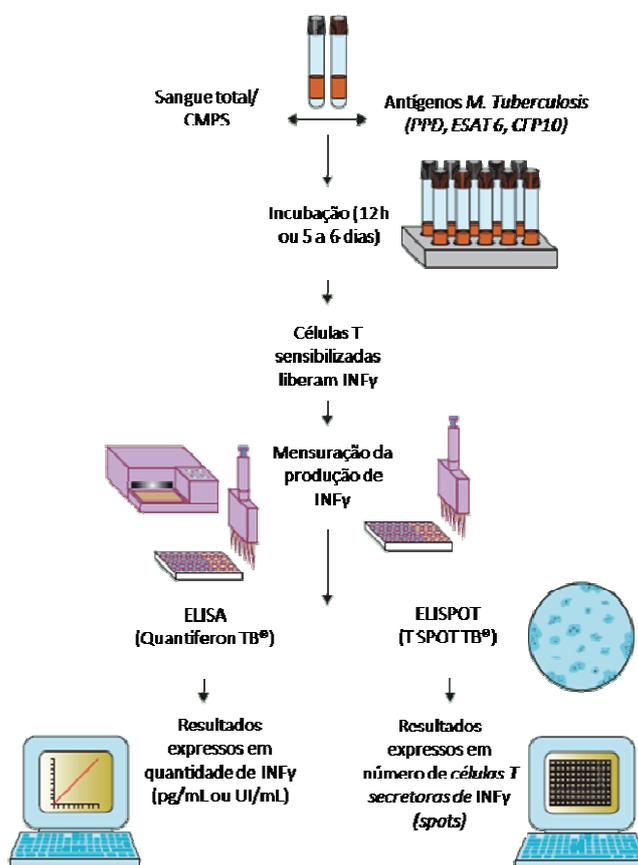


Figura 9 – Diferenças na técnica de realização do QUANTIFERON- B e do T- SPOT.TB
Fonte: PAI; RILLEY;COLFORD (2004)

Evidências sugerem que os ensaios baseados na detecção de IFN γ têm um melhor desempenho que o PPD por apresentar uma maior especificidade, melhor correlação com medidas indiretas de exposição ao *M. tuberculosis* e uma menor reação cruzada com a vacinação por BCG e infecções por outras micobactérias (ANDERSEN et al., 2000; LALVANI, 2003; BARNES, 2004). No Quadro 2 pode ser observada a comparação das características dos três testes para diagnóstico de ITBL.

Variável	PPD	Quatiferon-Gold	T-SPOT.TB
Administração	In vivo (intradérmico)	Ex vivo (ELISA)	Ex vivo (ELISPOT)
Antígeno	PPD ou RT-23	ESAT-6, CFP-10 e TB7.7	ESAT-6 e CFP-10
Unidades de medida	Milímetros ou enduração	Unidades de INF- γ	Formação de <i>spots</i>
Definição de resultados positivos	5, 10 e 15 mm	INF- γ > 0,35 U/mL	≥ 6 <i>spots</i> em cada poço contendo antígenos
Resultado indeterminado	Se ocorrer anergia	Resposta pobre ao mitógeno (<0,5U/mL no controle positivo) ou <i>background</i> elevado (>8,0 U/mL em cada poço)	Resposta pobre ao mitógeno (< 20 <i>spots</i> no controle positivo) ou <i>background</i> elevado (> 10 <i>spots</i> no controle negativo)
Tempo para o resultado	48-72h	16-24 h	16-24 h
Número de visitas necessárias	Duas	Uma	Uma
Custo total por teste (em dólares)	12,73	41	85
Sensibilidade	71% (65 – 74%)	76% (70 – 83%)	88% (81 – 95%)
Especificidade	66% (46 – 86%)	97% (95 – 99%)	92% (88 – 95%)

Quadro 2 – Comparação entre as características dos três testes para diagnóstico da ITBL
Fonte: MENZIES et al. (2007)

Numerosos estudos têm sido realizados para determinar as características operacionais do teste T-SPOT.TB no diagnóstico da ITBL, porém a ausência de um padrão ouro nestes casos limita a qualidade dos estudos (WHALEN, 2005). Para contornar este problema, podem ser utilizadas duas formas diferentes de abordagens. Em uma, os resultados do novo teste são comparados diretamente com os do PPD, sendo em seguida calculado o nível de concordância. Esta forma de avaliação é útil, pois se pode comparar o desempenho do novo teste, com um já bastante conhecido, como o PPD (PAI et al., 2005). Outra forma de abordagem é aquela em que é construído um instrumento de validade baseado em critérios, como por exemplo, características clínicas ou epidemiológicas, onde é possível correlacioná-las com o risco de se desenvolver a ITBL e resultado do novo teste (KANG et al., 2005).

O teste T-SPOT.TB foi inicialmente validado e comparado com o PPD em pacientes com cultura positiva para infecção tuberculosa e em controles sem doença. A sensibilidade alcançada foi de 96%, significativamente mais elevada do que a do PPD, que foi de 69% (LALVANI, 2003). Diferente do que ocorre com o PPD, o T-SPOT.TB não é susceptível a falsos negativos em casos de infecção ativa, bem como mantém uma alta

sensibilidade em pacientes HIV positivos infectados pelo *M. tuberculosis* (CHAPMAN, 2002).

Meier et al. (2005) estudaram 92 pacientes alemães, com TB suspeita ou confirmada, comparando o T-SPOT.TB com métodos diagnósticos convencionais. A sensibilidade do teste foi de 97,2% (positivo em 70 de 72 pacientes com TB ativa, pulmonar ou extra-pulmonar). O PPD foi realizado em 45 destes pacientes, e somente 89% deles tiveram resultados positivos, contra 100% do T-SPOT.TB ($p=0.056$). Dentre os 12 pacientes onde a infecção tuberculosa foi descartada, o T-SPOT.TB foi negativo em 11 (92%), permitindo a rápida exclusão da infecção.

Uma meta-análise publicada recentemente comparou a sensibilidade e especificidade dos testes antígeno-específicos para INF- γ com o PPD para o diagnóstico de ITBL em pacientes saudáveis e imuno-comprometidos. Devido à falta do padrão ouro para testar infecção latente, os autores estimaram a sensibilidade de estudos que incluíram: 1) pacientes com TB ativa; 2) pessoas em contato com TB ativa, as quais foram categorizadas em gradientes de exposição e 3) concordância dos novos testes com o PPD. Para estimar a especificidade utilizaram os estudos que incluíram pessoas saudáveis com um taxa de exposição baixa à TB (MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007). De acordo com a meta-análise, a sensibilidade do T-SPOT.TB foi de 87% (0,78-0,95), enquanto a especificidade foi de 92% (0,88-0,95) comparado com uma sensibilidade de 71% (0,65-0,74) e especificidade de 66% (0,46-0,86) para o PPD. Quando foram analisados isoladamente os estudos que avaliaram o desempenho destes testes em imuno-comprometidos (5 estudos no total – CHAPMAN et al. 2002; LIEBESCHUETZ et al., 2004 apud MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007; BROCK et al. 2006 apud MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007; PASSALENT et al., 2006 apud MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007; PIANA et al, 2006 apud MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007) foi observado que: em dois estudos as respostas dos testes específicos foram discretamente reduzidas nos imuno-comprometidos quando comparado com pessoas normais e em 3 estudos com comparação direta com o PPD, a prevalência de resultados positivos com o T-SPOT.TB foi substancialmente maior do que os resultados positivos com o PPD.

Outro aspecto importante e que vem sendo motivo de discussão é a relação custo/benefício da utilização destes novos testes. Alguns estudos já foram realizados com objetivo de esclarecer esta dúvida, e os resultados encontrados em países com baixa prevalência de TB foram diferentes daqueles encontrados em locais onde a TB é endêmica.

Utilizando dados da prática clínica, Diel, Wrighton-Smith e Zellweger (2007) realizaram um estudo na Alemanha para avaliar o custo/efetividade do *screening* para ITBL, comparando resultados do PPD com o T-SPOT.TB em contatos intra-domiciliares de casos de infecção tuberculosa ativa. Uma limitação do estudo que foi considerada no momento da análise foi o fato do PPD ser considerado um *gold-standard* imperfeito, devido a sua baixa especificidade e reação cruzada com outras micobactérias. Os autores demonstraram que em contatos intra-domiciliares que ocorreram até 20 anos antes, a estratégia que apresentava o melhor custo benefício foi a realização do PPD (considerado positivo a partir de 10 mm) seguida da realização do T-SPOT.TB. No entanto, quando foi realizada a média, a estratégia que apresentou o menor custo foi a realização do T-SPOT.TB sozinho. Para o cálculo foi levado em consideração do custo da utilização inadequada da isoniazida (em casos de PPD falso positivos, que poderiam ser comprovados pela utilização do T-SPOT.TB) e a progressão para infecção tuberculosa nos grupos de risco, cuja ITBL não foi detectada pelo PPD.

Quando realizado em países de alta incidência de TB a relação custo/benefício só foi interessante para confirmar um resultado de PPD positivo em pessoas com alto risco de infecção tuberculosa (OXLADE; SCHWARTZMAN; MENZIES, 2007).

1.1.3 Artrite reumatóide e tuberculose

1.1.3.1 Epidemiologia da TB na AR

Pré-anti-TNF

Assim como ocorre em outras doenças auto-imunes, a incidência de TB em pacientes com AR tende a ser mais elevada do que na população geral. Este risco aumentado está associado à alterações imunológicas causadas pela própria doença, assim como ao tratamento com drogas imunossupressoras, principalmente o corticosteróide (CARMONA et al., 2003; YOSHINAGA et al., 2004; BRASSARD; KEZOUH; SUISSA, 2006).

Jick et al. (2006) observaram um risco 5 vezes maior de infecção tuberculosa em pacientes usando doses de prednisona acima de 15 mg/dia, quando comparado aos controles,

sendo este risco proporcional à dose e ao tempo total de uso da medicação. Outro estudo realizado na Coreia demonstrou uma incidência de 20/1000 pacientes/ano quando utilizavam doses de prednisona acima de 18 mg/dia, também relacionado à dose e ao tempo de exposição (KIM et al., 1998). Devido a esta incidência aumentada, alguns autores sugerem a realização de quimioprofilaxia com isoniazida (300 mg/dia, por 6 meses) em pacientes habitantes de áreas endêmicas de TB e que vão fazer uso crônico de corticosteróide (HERNÁNDEZ-CRUZ et al., 1999).

Alguns autores têm demonstrado que existe também uma maior incidência de TB em pacientes portadores de AR, independente do tipo de terapêutica utilizada. Em um estudo realizado na Espanha, antes do início do uso de anti-TNF, foram analisados 788 pacientes com AR e foi observada uma incidência de 95 casos/100.000 habitantes (RR de 4,13; IC= 95%: 2,59-6,83) enquanto a incidência em pessoas sem AR era de 23/100.000 (CARMONA et al., 2003). Yamada et al. (2006) também analisaram pacientes com AR antes do início da terapia biológica e observaram uma incidência de TB de 42,4/100.00 habitantes, contra uma incidência de 25,8 na população geral, sendo o risco maior em indivíduos do sexo masculino.

Kogure et al. (1999) demonstraram que o risco aumentado de TB na AR existe mesmo quando não é utilizada terapia imunossupressora, estando o aumento da susceptibilidade relacionado às anormalidades funcionais dos linfócitos T CD4+. Em um estudo realizado em Tóquio (YAMADA et al., 2006), a prevalência de TB em pacientes com AR foi aproximadamente 3 vezes mais elevada do que aquela observada em todo o Japão, com uma frequência maior da forma miliar, não havendo diferença quanto ao uso de DMARD's.

Pós-anti-TNF

A preocupação com a prevalência da TB em pacientes com AR começou a aumentar após início da utilização dos Anti-TNF's. Vários estudos realizados utilizando informações de bancos de dados pós-*marketing* demonstram claramente esta associação (KEANE et al., 2001; GOMEZ-REINO et al., 2003; WOLFE et al., 2004; WALLIS et al., 2004; BALDIN et al., 2005; FONSECA et al., 2006; SEONG et al., 2007;). Existem evidências substanciais que o risco de reativação de TB aumenta de cinco a dez vezes após o uso dos anti-TNF's, quando comparados com outros tratamentos na mesma população

(GOMEZ-REINO et al., 2003; WALLIS et al., 2004; ORMEROD et al., 2005). O risco é mais elevado nos primeiros meses da terapia e o padrão de acometimento é geralmente extra-pulmonar ou doença disseminada (KEANE et al., 2001).

Uma das primeiras revisões publicadas sobre o assunto foi feita por Keane et al. (2001) utilizando dados do Sistema de Relatos de Eventos Adversos do FDA, entre 1998 e 2001. Foram relatados 70 casos de TB após a utilização do infliximabe, ocorrendo geralmente em um intervalo médio de 12 semanas após o início do tratamento. Dos 70 casos, 56% apresentaram infecção extra-pulmonar e 24%, doença disseminada. A taxa de incidência de TB em pacientes com AR neste grupo foi de 24,4 casos/100.000/ano, bem mais elevada do que a taxa encontrada em pacientes com AR nos Estados Unidos, que não utilizavam anti-TNF, que era 6,2 casos/100.000/ano. Na tabela 2 estão resumidos os principais estudos sobre a incidência de infecção tuberculosa em pacientes com AR que fizeram uso de anti-TNF.

Tabela 2 - Incidência de infecção tuberculosa em pacientes com a AR que fazem uso de anti-TNF, comparado com pacientes com AR que não usam anti-TNF

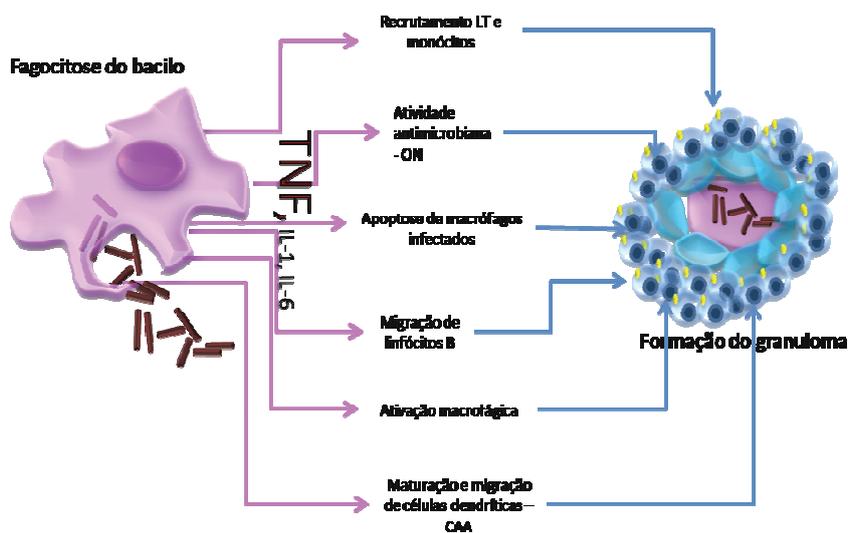
Local	Incidência de TB em AR, sem Anti-TNF (/100.000/ano)	Incidência de TB em AR, com Anti-TNF (/100.000/ano)
Estados Unidos (Keane et al., 2001)	6,2	24,4
Estados Unidos (Wolf et al., 2004)	6,2	52,5
Espanha (Carmona et al., 2003)	124	1839
Coréia (Seong et al., 2007)	257	2558

Baldin et al. (2005) analisaram todos os casos de TB na França, relatados em pacientes que receberam tratamento com infliximabe no período de janeiro de 2000 a junho de 2003, sendo os casos classificados em três formas de TB: pulmonar, extrapulmonar e disseminada. Durante o período do estudo foram identificados 56 casos de TB, com uma incidência de 8-24 casos/ 10.000 habitantes, ano, contra uma incidência de 1.1/10.000 na população geral. Os principais fatores de risco observados foram a história de contato com caso de TB, infecção primária ou passado de TB e o uso concomitante de imunossupressores. As formas clínicas de TB observadas foram: pulmonar em 39,3%; extrapulmonar em 21,4% e disseminada em 30,4% dos casos. O tempo médio entre o início do tratamento e o diagnóstico

de TB foi de 3 meses, enfatizando para a necessidade de monitorização ainda mais atenta na época da terceira infusão.

1.1.3.1 Bloqueio do TNF- α e TB

O controle da infecção pelo *M. tuberculosis* é o resultado de uma resposta imune satisfatória, que requer a ativação de linfócitos T antígeno-específicos CD4+ e CD8+, recrutamento de células para o local da infecção e produção de citocinas, algumas das quais responsáveis pela ativação de macrófagos. Estas ações levam à inibição ou destruição de praticamente todos os bacilos. A formação do granuloma se dá exatamente pela persistência de bacilos viáveis, onde o núcleo central é composto por células gigantes e debris necróticos envolvidos em uma camada de macrófagos e linfócitos (MARINO et al., 2007; WALLIS, 2007). O TNF- α é uma citocina essencial no recrutamento destas células e para a manutenção da estrutura do granuloma, preservando assim a infecção em seu estado latente, conforme pode ser observado na Figura 10 (STENGER, 2005; WALLIS, 2007).



LT – Linfócitos T; ON – Óxido Nítrico; CAA – Células Apresentadoras de Antígeno

Figura 10 – Ação do TNF na formação e manutenção do granuloma

Fonte: Stenger, 2005; Wallis, 2007.

Após a fagocitose do bacilo pelos macrófagos alveolares, o TNF- α e outras citocinas pró-inflamatórias estimulam a chegada de granulócitos e monócitos para o alvéolo e espaço intersticial. Células dendríticas maduras, com a função de CAA chegam aos linfonodos locais, também estimuladas pelo TNF, o que vai promover uma amplificação da resposta das células T específicas. Estas células T efetoras passam a produzir INF- γ e TNF- α , o que estimula a produção enzimática de macrófagos com potente atividade anti-microbiana e a indução de moléculas de adesão necessárias para justa-posição de células T e macrófagos no granuloma (EHLERS, 2005). Durante a fase de latência, as fontes celulares de produção do TNF são linfócitos e macrófagos (MARINO et al., 2007).

Em estudos experimentais, camundongos com deficiência de TNF produziram granulomas desorganizados, alta carga bacilífera e diminuição da sobrevivência (BEAN et al., 1999). A ausência da sinalização do TNF provoca não só a dissolução como a não formação do granuloma durante a infecção crônica, o que levava à morte do camundongo (EHLERS et al., 2000).

Existe associação das três drogas inibidoras de TNF com o aumento da incidência de TB, porém parece haver um menor número de casos com a utilização do etanercepte. Esta diferença pode ser explicada devido a diferenças significativas na cinética e no mecanismo de ação das duas classes de antagonistas do TNF (receptor solúvel e anticorpo monoclonal) descritas abaixo (FURST et al., 2006):

- A avidéz de ligação dos anti-corpos monoclonais ao TNF é maior do que a do receptor solúvel (etanercepte);
- A supressão do TNF é maior e mais prolongada durante o tratamento com infliximabe e adalimumabe, podendo produzir ablação funcional da atividade dos macrófagos, com aumento da susceptibilidade a infecções (o que por outro lado pode melhorar a eficácia);
- O infliximabe e o adalimumabe induzem a lise celular e apoptose de monócitos e células T ativadas, componentes essenciais do granuloma;
- Ocorre inibição da produção de INF- γ , essencial na defesa do hospedeiro contra a infecção bacteriana, pelo infliximabe e adalimumabe, mas não pelo etanercepte.

Uma revisão sobre a incidência de infecções granulomatosas após tratamento com as drogas biológicas, relatadas ao FDA, de setembro de 1998 a setembro de 2002, evidenciou uma taxa de incidência de TB em pacientes com AR variando de 74 (para o etanercepte) a 197 (para o infliximabe) por 100.000 pacientes tratados. Os autores concluíram que o risco de

infecção granulomatosa era 3,25 vezes mais elevado em pacientes que estavam recebendo infliximabe do que em pacientes que utilizaram o etanercepte. (WALLIS et al., 2004).

1.1.3.3 Diagnóstico da ITBL na AR

Devido ao aumento da incidência e severidade de infecções tuberculosas após o início do uso dos anti-TNF's no tratamento da AR, a identificação de casos de ITBL passou a ser obrigatória antes do início da terapêutica (MANGINI; MELO, 2003; ORMEROD et al., 2005; PROVENZANO; FERRANTE; SIMON, 2005). As orientações brasileiras para diagnóstico da ITBL ou doença ativa sugerem que na avaliação antes do início do tratamento com anti-TNF deva ser incluída história clínica completa (tratamento ou quimioprofilaxia anteriores; contato intradomiciliar ou institucional com TB); radiografia de tórax e a realização do PPD.

A radiografia de tórax é considerada suspeita quando apresenta imagem sugestiva de tuberculose ativa ou de infecção latente. Dentre as alterações radiográficas mais comuns consideradas como sugestivas de ITBL temos: nódulos calcificados; cicatriz fibrosa; nódulos não calcificados; bronquiectasias e espessamento pleural. Todas estas alterações são inespecíficas, podendo ser encontradas em outras doenças pulmonares. Para que sejam levadas em consideração devem ser avaliadas sempre em conjunto com a história clínica e o resultado do PPD (JOSHI et al., 2007)

O PPD é considerado positivo quando apresenta valor acima de 5 mm. A utilização deste ponto de corte, ao invés de 10 mm para exames positivos, minimiza a interferência da AR e do tratamento imunossupressor sobre a hipersensibilidade (MANGINI; MELO, 2003).

Após a adoção destas medidas para identificação dos casos de ITBL, e a realização da quimioprofilaxia com isoniazida nos casos identificados – PPD reator (≥ 5 mm), independente do RX de tórax ou PPD não reator (< 5 mm), porém com passado de tuberculose, quimioprofilaxia prévia ou RX de tórax compatível com sinais de seqüela de TB – a incidência de infecção tuberculosa ativa diminuiu significativamente durante o tratamento com anti-TNF (MANGINI; MELO, 2003; MARIETTE et al., 2003; ORMEROD et al., 2005; CUSH et al., 2001; PAI et al., 2005).

Um grande complicador para o diagnóstico prévio de ITBL nos portadores de AR é a anormalidade da função celular imune (PANAYI; CORRIGAL; PITZALIS, 2001) observada nestes pacientes. Existe uma diminuição da responsividade de células mononucleares periféricas, o que acarreta prejuízo para hipersensibilidade cutânea tardia para o reconhecimento de antígenos, como é o caso do PPD (EMERY et al., 1984; CORRIGAL; GARYFALLOS; PANAYI, 1999; PANAYI; CORRIGAL; PITZALIS, 2001). Não se sabe exatamente o mecanismo para esta alteração, mas já foi demonstrado que pode ser ocasionada pela deficiência da produção de IL-2 (KINGSLEY; PITZALIS; PANAYI, 1987) ou exposição crônica ao TNF (CORRIGAL; GARYFALLOS; PANAYI, 1999). As células T regulatórias (TReg) ($CD4^+CD25^+$), que tem papel fundamental na prevenção da auto-imunidade, apresentam uma diminuição em número e função na AR (EHRENSTEIN et al., 2004) e conforme foi demonstrado em trabalho brasileiro recente, o número de células T $CD4^+$ (TReg) está diretamente relacionado com a magnitude da resposta ao PPD (MARTINS et al., 2006).

O teste de Mantoux avalia *in vivo* a resposta celular imune contra a proteína purificada derivada do *M. tuberculosis*, resultando numa reação clássica de hipersensibilidade cutânea tardia, dependente da migração de células T $CD4^+$ produtoras de $INF\gamma$ para o local da injeção do antígeno. Pacientes com AR apresentariam uma incapacidade de produção de resposta adequada ao PPD, mesmo em indivíduos infectados pelo *M. tuberculosis*, tornando o teste inapropriado para o reconhecimento das formas latentes nestes pacientes (KINGSLEY; PITZALIS; PANAYI, 1987). Algumas autoridades recomendam inclusive que pacientes com AR e PPD negativo, mas que tenham grande risco clínico ou epidemiológico para infecção tuberculosa sejam empiricamente tratados para ITBL antes do início da terapia com uma droga biológica (FURIN; JOHNSON, 2005).

Em um estudo desenvolvido no Peru (PONCE DE LÉON et al., 2005), onde a TB é endêmica, o PPD foi realizado em um grupo de pacientes com AR e num outro, de voluntários imunocompetentes, pareados por sexo e idade. Foi considerado positivo um resultado maior ou igual a 5 mm no grupo AR e maior ou igual a dez no grupo imunocompetente. Um resultado menor do que cinco mm após 72h foi considerado negativo, nos dois grupos. Foi identificada uma positividade de 71% do PPD no grupo imunocompetente contra 29% no grupo com AR. Todos os pacientes do grupo AR utilizavam doses menores que 7,5 mg/dia de corticosteróide, o que reconhecidamente, não suprime a hipersensibilidade cutânea tardia. Esta discrepância de resultados foi associada à anormalidade da imunidade celular da AR. Em outro estudo realizado na Turquia, área onde a prevalência de TB é relativamente elevada, foi observada uma baixa positividade do PPD

(29,8%) quando comparado com pacientes portadores de espondilite anquilosante (65,9%), artrite gotosa (68,8%) e osteoartrite (63%) (KÖKER et al., 2007).

Provenzano, Ferrante e Simon (2005) avaliaram 69 pacientes italianos portadores de doença inflamatória articular crônica, que iriam se submeter ao tratamento com anti-TNF. Durante o *screening* para ITBL foram encontrados 2,9% de pacientes com história prévia de TB tratada, 8,7% de PPD positivo e alterações radiográficas compatíveis com seqüela de TB em 20,3%, demonstrando a falha do PPD em identificar todos os pacientes portadores de ITBL, tornando a prática da realização da radiografia de tórax obrigatória.

Bahr et al. (1989) investigaram o tipo de HLA na AR estabelecida e sua relação com 4 tipos de testes cutâneos para micobactérias (tuberculina, leprosin A, escrofulina e vaccina), injetados no antebraço, em uma população árabe. Para isso, foram analisados três grupos de pacientes: AR estabelecida (46), infecção tuberculosa ativa (111) e pessoas saudáveis (79). A responsividade aos testes cutâneos para micobactérias foi significativamente menor nos grupo de pacientes com AR e está associado com o haplótipo DR7, o que não ocorreu nos outros dois grupos.

1.1.3.4 Efetividade das recomendações para utilização do anti-TNF no controle das infecções tuberculosas

Vários estudos têm sido realizados, em várias partes do mundo, no sentido de determinar o impacto e a efetividade das recomendações das agências e autoridades de saúde antes do início da terapia com anti-TNF, no controle da infecção tuberculosa.

O BIOBADASER é um banco de dados de registro de uso de drogas biológicas da Sociedade Espanhola de Reumatologia. Utilizando dados destes registros, Carmona et al. (2005) observaram que após a introdução das recomendações para a realização do *screening* pré-anti-TNF, a incidência de TB caiu 83%, ficando próxima à de pacientes com AR que não utilizaram anti-TNF. Este mesmo grupo publicou recentemente outro estudo mostrando que, nos casos onde as recomendações não eram seguidas completamente, o risco de desenvolver TB foi sete vezes mais elevado (GOMEZ-REINO et al., 2007).

No Japão, um estudo de pós-marketing avaliou 5000 pacientes que utilizaram infliximabe e que foram obrigatoriamente submetidos ao *screening* para ITBL, entre julho de 2003 e dezembro de 2004. A taxa de incidência de TB foi de 0,3%, semelhante à coorte de

pacientes sem AR. Dos que desenvolveram TB, 64% eram mulheres e não tinham história prévia da doença. A taxa de incidência de TB foi diminuindo ao longo dos anos (de 0,6 para 0,1%), na proporção inversa da taxa de tratamento profilático, que foi aumentando (13,5% para 25,5%) (DABBOUS et al., 2007).

Tubach et al. (2007) relataram 45 casos de TB em três anos, em pacientes que utilizaram anti-TNF (23 casos com infliximabe, 19 casos com adalimumabe e 3 com etanercepte) e nenhum deles havia recebido a quimioprofilaxia para TB, antes do início do anti-TNF. Dois terços dos casos tinham um PPD < 5 mm antes do início da terapia e 19 deveriam ter realizado a quimioprofilaxia (PPD > 5 mm). A média de idade foi 62 anos e 60% dos pacientes eram do sexo feminino. Clinicamente, a doença era pulmonar em 19 casos, adenite em 6, disseminada em 18 e primo-infecção em 1 caso. Os autores alertam para o fato que a TB ainda é um problema durante o tratamento com anti-TNF e que o PPD parece não ser suficiente para a detecção de ITBL.

Outro estudo de pós-marketing com o etanercepte avaliou 17.656 pacientes/ano expostos à medicação. Foram observados 2 casos de TB em centros na Europa e nenhum caso em centros nos EUA, com uma taxa de incidência de 1,4, o que não é diferente daquela encontrada na população geral (WAJDULA et al., 2007). Quando avaliado o risco de reativação de TB em pacientes com PPD positivo, também utilizando etanercepte, não foi identificado nenhum caso em 1281 meses de seguimento, porém todos os pacientes haviam realizado quimioprofilaxia com INH (MANADAN et al., 2007).

Apesar da aparente efetividade destas recomendações, existem relatos de casos de infecção mesmo quando estas são realizadas corretamente. Na Grécia, de 11 pacientes diagnosticados com TB ativa, 10 haviam apresentado indicação para realização da quimioprofilaxia com INH; em sete deles esta foi realizada corretamente, por seis meses. Apenas um paciente deste grupo não apresentava indicação para INH (PPD negativo e RX de tórax normal) (SICHLETIDIS et al., 2006).

A prevalência de casos de TB em pacientes utilizando anti-TNF é maior nos primeiros meses após o início do tratamento, podendo, no entanto ocorrer tardiamente, já tendo sido descrito casos de infecção tuberculosa após 18 meses de tratamento. Estes casos demonstram a necessidade de uma observação rigorosa em todos os pacientes que estão usando terapia anti-TNF, mesmo após vários meses do início do tratamento (SELLAS et al., 2007).

1.1.3.5 Utilização dos novos testes para diagnóstico de ITBL na AR

Até o início do nosso trabalho de revisão em 2005, não havia nenhum estudo publicado sobre a utilização dos novos testes para diagnóstico de ITBL em pacientes com AR. No entanto, este é um tema que vem despertando o interesse da comunidade científica e recentemente alguns trabalhos foram publicados, realizados com o objetivo de avaliar o desempenho dos testes específicos baseados na produção de INF γ , em pacientes com AR.

Sellam et al. (2007) foram um dos primeiros autores a comparar o desempenho do T-SPOT.TB com o PPD, antes da terapia com Anti-TNF. Foram estudados 68 pacientes portadores de doença auto-imune, sendo 35 com ITBL e 33 sem ITBL, de acordo com critérios clínicos, radiográficos e positividade do PPD (acima de 10 mm). Dentre os pacientes que apresentavam diagnóstico de ITBL independente do resultado do PPD, 5 apresentavam PPD negativo, contra apenas 2 resultados negativos do T-SPOT.TB. Os autores concluíram que o T-SPOT.TB apresenta uma melhor sensibilidade e especificidade do que o PPD, principalmente nos casos de ausência de sinais clínico-radiológicos de ITBL.

Dinser et al. (2008) avaliaram a eficácia de um teste *in house* (citômetro de fluxo quantitativo no sangue total utilizando como antígenos CFP-10, ESAT-6 ou PPD) no diagnóstico de ITBL comparado com o PPD em pacientes com doença articular inflamatória. Foi encontrada uma melhor especificidade do teste citométrico e que este pode aumentar a precisão do diagnóstico de ITBL, evitando principalmente o tratamento desnecessário com a INH. Uma série de outros estudos foi publicada no último Congresso do ACR, realizado em novembro de 2007, na cidade de Boston (MA), sob a forma de pôster. A maioria deles demonstra resultados divergentes entre o PPD e os testes específicos para tuberculose. Outro ponto importante em comum entre os estudos é alto valor preditivo negativo demonstrado dos testes específicos, sendo capaz de identificar os casos de PPD falso positivo, principalmente em população com alta taxa vacinal para BCG, evitando assim a quimioprofilaxia desnecessária com INH antes do uso do Anti-TNF (BEHAR et al., 2007; INANC et al., 2007; PONCE-DE-LEON et al., 2007; SOBORG et al., 2007; SUWA et al., 2007; TAKENO et al., 2007). Em apenas um dos trabalhos (GOGUS et al., 2007) não houve uma superioridade do teste específico em relação ao PPD no diagnóstico da ITBL (Quadro 3).

	N	Tipo de estudo	Teste utilizado	Grupos	Comparativo	Conclusão
BEHAR <i>et al.</i> , 2007 – Boston, USA	194	Transversal	T-SPOT. TB	Doenças auto-imunes	PPD, RX de tórax	T-SPOT.TB teria uma maior valor preditivo negativo, principalmente em pacientes previamente vacinados com BCG
GOGUS <i>et al.</i> , 2007 – Ankara, Turquia	24	Transversal, área endêmica	QTF – TB	AR, Espondilite anquilosante controles saudáveis	PPD	QTF não foi superior ao PPD na detecção de ITBL
INANC <i>et al.</i> , 2007 Istambul, Turquia	74	Transversal, área endêmica	QTF – TB	AR e EA	PPD	78% PPD + e 38% de QTF +. Menor prevalência de ITBL do que o imaginado – efeito da vacinação com BCG?
PONCE DE LEON <i>et al.</i> , 2007 – Lima, Peru	194	Transversal, área endêmica	QTF – TBG	AR e controles saudáveis	PPD	QTF foi mais acurado que o PPD na detecção de ITBL.
SOBORG <i>et al.</i> , 2007 – Copenhagem, Dinamarca	198	Coorte prospectiva	QTF – TB	Candidatos a Anti-TNF	PPD, RX de tórax	47% de QTF + e PPD – 78% de PPD + e QTF -
SUWA <i>et al.</i> , 2007 – Tokyo, Japão	152	Transversal	QTF – TBG	AR	História, PPD e RX de tórax	QTF parece ser uma ferramenta útil no diagnóstico de ITBL em casos selecionados – PPD negativo, com história e RX normais.
TAKENO <i>et al.</i> , 2007 – Yokohama, Japão	223	Transversal	T SPOT. TB	TB ativa, AR e controles saudáveis vacinados com BCG	PPD	PPD + em 95% dos controles saudáveis, menor em pacientes com AR. ELISPOT mais sensível e mais específico do que o PPD

Quadro 3 – Trabalhos publicados no Congresso do ACR em 2007 comparando PPD e testes específicos para TB

1.2 Justificativa

Devido ao aumento da incidência e severidade de infecções tuberculosas após o início do uso dos anti-TNF's no tratamento da AR, a identificação de casos de ITBL passou a ser obrigatória antes do início da terapêutica (FURRIN; JOHNSON, 2005; ORMEROD *et al.*, 2005).

Diante do fato de que o PPD não é um teste ideal na identificação de casos de ITBL em pacientes com AR (PONCE DE LEON *et al.*, 2005; PROVENZANO; FERRANTE; SIMON, 2005), o desenvolvimento de testes alternativos para identificação de ITBL tem sido alvo de inúmeras pesquisas. Evidências sugerem que os ensaios baseados na detecção de IFN γ têm um melhor desempenho que o PPD por apresentar uma alta especificidade, melhor correlação com medidas indiretas de exposição ao *M. tuberculosis* e uma menor reação cruzada com a vacinação por BCG e infecções por outras micobactérias (ANDERSEN *et al.*, 2000; LALVANI, 2003; BARNES, 2004).

O desempenho dos testes para detecção de IFN γ em pacientes com AR ainda não foi estudado no Brasil, porém, semelhante ao que ocorre em outras populações de risco,

parece ser um método confiável e seguro na detecção de ITBL e posterior utilização de tratamento com anti-TNF. No Brasil, o presente trabalho é pioneiro em utilizar o teste T-SPOT.TB no diagnóstico da ITBL em pacientes com AR.

A infecção tuberculosa ativa é uma séria possibilidade durante o tratamento com todos os anti-TNF's, principalmente em nosso país, área de alta endemicidade para a doença. Importante lembrar que a forma de aparecimento da tuberculose nestes casos tende a ser extra-pulmonar, grave e disseminada, o que confere uma maior morbidade e maior dificuldade diagnóstica. A implementação de estratégias para identificação de ITBL, principalmente na população de risco pode diminuir o impacto da infecção tuberculosa neste pacientes.

É de extrema importância o reconhecimento do comportamento clínico-epidemiológico da ITBL, uma vez que a prática da terapêutica com os anti-TNF's vem se tornando cada vez mais comum, e o PPD falha no reconhecimento de todos os casos de ITBL, podendo levar ao aumento da incidência de TB ativa, contribuindo para a disseminação da doença. Estes dados enfatizam a necessidade da avaliação do T SPOT-TB frente ao PPD para o diagnóstico de ITBL em pacientes com AR, antes do início da terapia com anti-TNF.

2 PERGUNTA CONDUTORA



Qual o desempenho do teste T-SPOT.TB, em uma área endêmica como o estado de Pernambuco, para detecção de infecção tuberculosa latente, comparado ao PPD, em portadores de Artrite Reumatóide com indicação para o uso do anti-TNF?

3 OBJETIVOS



3.1 Objetivo geral

Avaliar o desempenho do teste T-SPOT.TB, no diagnóstico de infecção tuberculosa latente, comparando-o com o do PPD, em pacientes portadores de Artrite Reumatóide (AR).

3.2 Objetivos específicos

- Calcular a sensibilidade e especificidade dos testes T-SPOT.TB e dos modelos propostos para diagnósticos de ITBL utilizando o PPD, RX de tórax e história de contato intra-domiciliar, em pacientes com AR.
- Comparar os resultados dos testes T-SPOT.TB e do PPD no grupo de pacientes com AR e no grupo de comparação;
- Correlacionar as variáveis estudadas com os resultados dos dois testes.

4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

4.1 Área e população do estudo

Foi realizado um estudo transversal de avaliação de teste diagnóstico, onde foram incluídos 96 pacientes por amostragem não probabilística, do tipo por conveniência, divididos em dois grupos: 48 pacientes com diagnóstico de Artrite Reumatóide de acordo com os critérios do ACR (ARNETT *et al.*, 1988 – Anexo 1) (grupo AR) e 48 indivíduos saudáveis, compondo o grupo de comparação (grupo COMP), no período de maio a outubro de 2007, selecionados do ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE), provenientes do estado de Pernambuco.

Para entrada no estudo os pacientes com AR deveriam preencher os critérios de inclusão e exclusão, contidos na Tabela 3. Foram selecionados também voluntários que freqüentavam o mesmo ambulatório, que não apresentavam doença auto-imune, que também preenchiam os critérios de inclusão e exclusão, contidos na Tabela 4, para formarem um grupo COMP.

Tabela 3 - Critérios de inclusão e exclusão do Grupo AR

Critérios de inclusão
<ol style="list-style-type: none"> 1. Idade igual ou superior a 18 anos 2. Diagnóstico de Artrite Reumatóide de acordo com os critérios do ACR (Anexo 1 – ARNETT <i>et al.</i>, 1987), em atividade, com indicação para uso de infliximabe
Critérios de exclusão
<ol style="list-style-type: none"> 1. Infecção tuberculosa ativa 2. Vacinação com BCG há menos de 15 anos 3. Tratamento anterior com drogas biológicas (infliximabe, etanercepte ou adalimumabe) 4. Diagnóstico conhecido de outras doenças consideradas fatores de risco para TB: SIDA, desnutrição, diabetes, doença renal ou hepática e neoplasias 5. Infecções agudas 6. Pacientes hospitalizados 7. Gestantes

Tabela 4 - Critérios de inclusão e exclusão do Grupo COMP

Critérios de inclusão
<ol style="list-style-type: none"> 1. Idade igual ou superior a 18 anos 2. Ausência de doença auto-imune: artrite reumatóide, espondiloartropatias soro-negativas, lúpus eritematoso sistêmico, esclerose sistêmica, dermatopolimiosite, vasculites sistêmicas, síndrome de Sjögren primária, dentre outras.
Critérios de exclusão
<ol style="list-style-type: none"> 1. Infecção tuberculosa ativa 2. Vacinação com BCG há menos de 15 anos 3. Diagnóstico conhecido de outras doenças consideradas fatores de risco para TB: SIDA, desnutrição, diabetes, doença renal ou hepática, neoplasias 4. Infecções agudas 5. Pacientes hospitalizados 6. Gestantes

4.2 Definição das variáveis

Variáveis dependentes:

- Ter ou não ter AR
- Diagnóstico de ITBL pelo resultado do T.SPOT.TB ou PPD

Variáveis independentes

- a. Idade: medida em anos;
- b. Sexo: masculino e feminino;
- c. Cor: branca, preta, parda, amarela;
- d. Procedência: definida como local de residência em Recife e Região Metropolitana, Zona da Mata, Agreste e Sertão;
- e. Tempo de evolução: definido em anos, a partir da data em que foi dado o diagnóstico;
- f. Tratamento: uso de metotrexate e corticosteróide (dose e tempo de utilização);
- g. Ocupação atual;
- h. Situação de risco para ocorrência de TB – história de contato intra-domiciliar; condições de moradia; nível de instrução e renda familiar;
- i. Alcoolismo: o consumo de álcool, para os voluntários que disserem fazer uso de bebida alcoólica, será estabelecido através do teste CAGE (MAYFIELD; MACLEOD; HALL, 1974), que é um questionário utilizado para rastreamento do alcoolismo, quando a pessoa admite que faz uso de bebida alcoólica, e

consta de quatro questões básicas a respeito da ingestão de álcool: C (*cut-down* — diminuir a ingestão), A (*annoyed* — irritado), G (*guilty* — culpado), E (*eye-opener* — identificação de ressaca). No Brasil, o CAGE foi validado por Masur e Monteiro (1983), sendo o instrumento de triagem mais utilizado em ambulatórios e hospitais. Em 1994, foi recomendado para pesquisas populacionais pelo Ministério de Saúde do Brasil. O ponto de corte adotado para a positividade do teste foi de duas ou mais respostas positivas.

- j. Avaliação do grau de atividade da AR: Na determinação da atividade da artrite reumatóide foi utilizado a CDAI (*Clinical Disease Activity Index*) (ALETAHA; SMOLEN, 2005) que é composto pela contagem de articulações dolorosas e edemaciadas (baseado em 28 articulações pré-determinadas - ombros, cotovelos, punhos, metacarpofalangeanas, interfalangeanas proximais e joelhos), avaliação da atividade da doença pelo médico e pelo paciente através de uma escala visual analógica (EVA) de 10 cm. O cálculo do índice é feito utilizando-se a seguinte fórmula: número de articulações dolorosas + número de articulações edemaciadas + EVA médico + EVA paciente. A definição dos pontos de corte para diferentes níveis de atividade da doença foi: remissão $\leq 2,8$; doença em baixa atividade ≤ 10 ; doença em atividade moderada ≤ 22 e doença com elevada atividade > 22 pontos.
- k. Radiografia do tórax: radiografia de tórax nas incidências pósterio-anterior (PA) e perfil, a fim de identificar lesões sugestivas de ITBL: lesões nodulares calcificadas, fibrose apical ou cicatriz pleural.

4.3 Método

Após a seleção dos voluntários, foi realizada a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – Apêndices A e B), sendo entregue uma versão diferente para cada um dos grupos (AR e COMP), os quais foram construídos respeitando-se as características do sujeito de pesquisa e justificativas para sua inclusão no estudo. Em seguida o paciente foi submetido ao um questionário específico, criado com o objetivo de determinar a história epidemiológica para TB e atividade da AR (ANEXO B). Após o preenchimento do questionário foram coletados 8 mL de sangue venoso, por punção

percutânea, utilizando o sistema Vacutainer®, divididos em 2 tubos de 4 mL cada, contendo EDTA, sendo as amostras enviadas ao Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM/FIOCRUZ) para o processamento, num tempo inferior a 2 horas, conforme Fluxograma abaixo (Figura 11). Todos os pacientes realizaram RX do tórax.

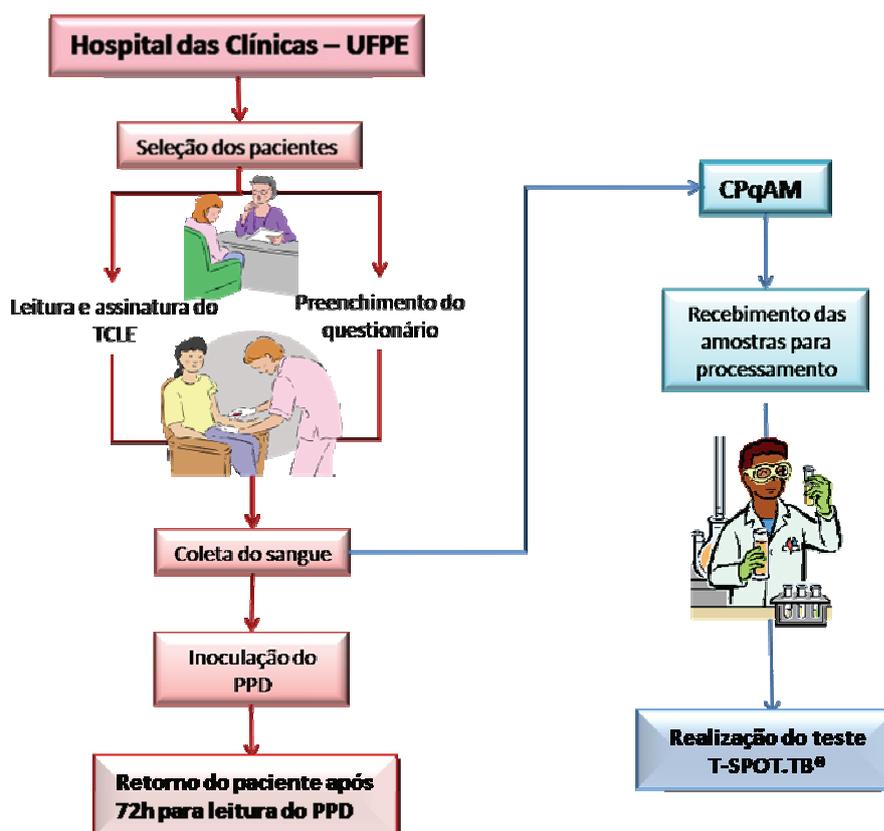


Figura 11 – Fluxograma de atendimento dos pacientes e envio de amostras ao CPqAM

Após a coleta do sangue, foi feita a inoculação de 0,1 ml (2UT) do PPD RT-23, utilizando-se a técnica de Mantoux (1908), no terço médio do antebraço esquerdo (aproximadamente 8 cm abaixo da prega do cotovelo), com seringas (BD Plastipak, 1 ml, 13 x 3,8) e agulhas (29G) descartáveis (Figura 12).



Figura 12 – Técnica de inoculação do PPD
Fonte: Do próprio autor. (2007)

A leitura do resultado do PPD foi realizada 72 horas após a aplicação, com o método de palpação do diâmetro transverso máximo da induração, com o resultado expresso em milímetros (Figura 13). A leitura foi realizada por um único examinador, em todos os pacientes. A resposta ao PPD foi analisada da seguinte forma:

Grupo AR: 0 a 4 mm, negativo; ≥ 5 , positivo

Grupo COMP: 0 a 4 mm, negativo; 5 a 10 mm, reator fraco; acima de 10 mm, reator forte.



Figura 13 – Leitura do PPD
Fonte: Do próprio autor (2007)

Realização do teste T-SPOT.TB

O teste T SPOT.TB é uma variante simplificada da técnica ELISPOT (*enzyme-linked immunospot*) para a determinação das células T efectoras que secretam IFN γ em resposta à estimulação pelos antígenos específicos para o *M. tuberculosis*. O kit do referido teste apresenta-se em um formato ELISA com tiras individualizadas, contendo 8 poços, e sensibilizadas com anticorpos anti-IFN γ . Também é acompanhado por um tubo contendo uma solução do antígeno ESAT-6 (Painel A), um tubo com uma solução do antígeno CFP-10 (Painel B), um tubo contendo uma solução de fitohemaglutinina (PHA) que funciona como controle positivo do teste. Um total de 4 poços é necessário para cada amostra. Todas as etapas para realização do teste seguiram as recomendações do fabricante, e resumidamente são descritas a seguir:

Após o recebimento das amostras no CPqAM, o sangue foi submetido a um gradiente de Ficoll-PaqueTM Plus (GE Healthcare, Sweden) para separação das células mononucleares do sangue periférico (CMSP), segundo esquema abaixo (Figura 14).

- a. Transferência das amostras de sangue para um tubo FalconTM de 50 ml contendo 8 ml de meio de cultura soro bovino fetal (Hybridoma-Serum Free Medium com L-Glutamina; Hibridoma-SFM) (Gibco, NY, USA).
- b. Em outro tubo FalconTM foi colocado 15 ml de Ficol-PaqueTM Plus (0,12 EU/mL) para auxiliar na separação das CMSP. Lentamente o sangue acrescido do meio Hybridoma-SFM foi adicionado ao Ficoll.
- c. Centrifugação das amostras (900 x g/ 30 minutos a temperatura ambiente, 18-25°C).
- d. Remoção do anel contendo as CMSP, com o auxílio de uma pipeta o qual é transferido para tubo FalconTM de 15 mL.
- e. Duas lavagens por centrifugação (900 x g/ 30 minutos a temperatura ambiente, 18-25°C), utilizando o meio Hibridoma-SFM.
- f. Contagem em câmara de Neubauer utilizando o corante de vitalidade Azul de Trypan (Sigma, CA, USA).

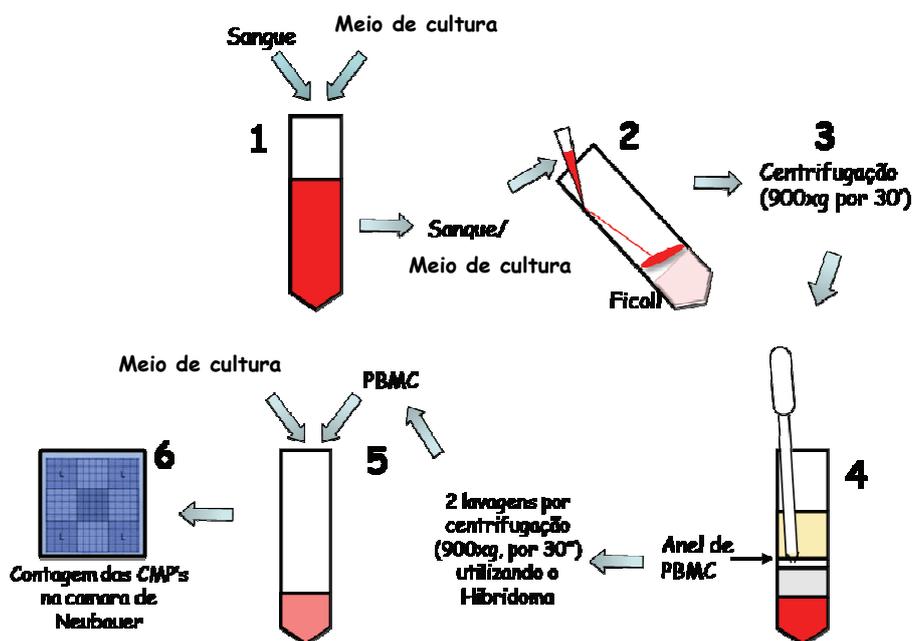


Figura 14 - Representação esquemática da separação das CMPS

Preparação da placa e leitura dos spots

De acordo com o esquema da Figura 15, a cada um dos quatro poços foram depositados 100 μL do meio Hibrídoma-SFM contendo 250.000 CMSP da amostra, adicionando em seguida 50 μL dos painéis A e B e do controle positivo. O poço apenas com 50 μL do meio Hibrídoma-SFM funcionou como controle negativo da reação. A placa foi incubada (37°C a 5% CO_2) por 16 a 20 horas, lavada quatro vezes com PBS (200 μL), quando foi adicionada, a todos os poços, uma solução de anticorpo anti-IFN γ (50 μL) conjugada à fosfatase alcalina, sendo novamente incubada por 60 minutos, a 2 a 8° C. Os *spots* coloridos identificados na placa após a aplicação de um substrato colorimétrico foram contados através do Programa *Image Acquisition* utilizando o CTL-Immunospot (BD Bioscience).

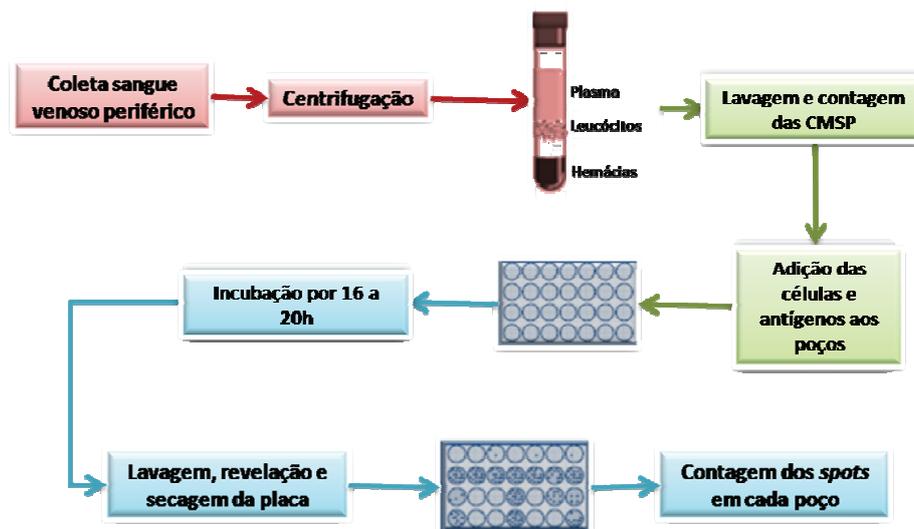


Figura 15 - Representação esquemática da preparação das placas e leitura dos poços

Avaliação dos Resultados

O teste foi considerado positivo quando o painel A ou B apresentou reação, de acordo com os seguintes critérios abaixo (Figura 16).

- Nos casos em que o controle negativo apresentou de 0 a 5 *spots*:
Contagem do painel (A ou B) – Contagem do controle negativo ≥ 6
- Nos casos em que o controle negativo apresentou mais de 5 *spots*:
Contagem do painel (A ou B) ≥ 2 vezes a contagem do controle negativo

Controle de qualidade

- Uma contagem no controle negativo maior do que 10 *spots* deveria ser considerado como resultado indeterminado. Isto pode ocorrer devido à presença de artefatos na amostra.
- O controle positivo deveria apresentar uma contagem maior do que 20 *spots* ou mostrar saturação. O controle positivo confirma que um número apropriado de células viáveis foi adicionado aos poços e que estas reagiram adequadamente ao antígeno.

- Quando o controle positivo e os painéis A e B fossem negativos, o teste deveria ser repetido para confirmar o resultado.
- Quando o controle positivo apresentasse contagem de *spots* inferior a 20, mas um resultado positivo tivesse sido obtido nos painéis A ou B, o teste deveria ser considerado positivo.

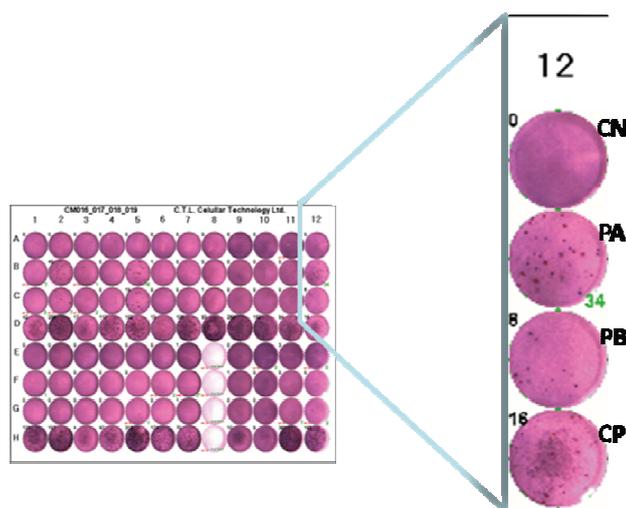


Figura 16 – Exemplo de uma placa do T-SPOT.TB. Cada paciente utilizava quatro poços, dispostos no sentido vertical. No detalhe um exemplo de resultado positivo, com 34 *spots* contados no Painel A (PA) e 8 *spots* contados no Painel B (PB). O detalhe também mostra o controle positivo (CP) e o controle negativo (CN) do teste.

4.4 Análise estatística

O objetivo principal do nosso estudo era comparar o desempenho de um novo teste (T-SPOT.TB) que teoricamente, de acordo com dados da literatura, seria melhor do que o do teste padrão (PPD). Isto classifica o PPD como um “padrão ouro imperfeito”, o que dificulta o cálculo da sensibilidade e da especificidade do novo teste, podendo estes resultados não traduzir a realidade. Para minimizar o problema, optamos pela utilização da técnica de Composição de um Padrão de Referência (CPR), que consiste na criação de um padrão mais adequado, utilizando a combinação do resultado de vários testes imperfeitos (ALONZO e PEPE, 1998).

Deste modo, para a análise estatística, criamos quatro modelos diferentes para considerar o paciente como portador de ITBL:

- a. Resultado isolado do PPD, considerado positivo quando ≥ 5 mm no grupo AR e ≥ 10 mm no grupo COMP;
- b. Resultado do PPD positivo e alterações radiológicas ao RX de tórax compatível ITBL (nódulo residual, fibrose apical ou cicatriz pleural);
- c. Resultados do PPD positivo e contato intra-domiciliar com TB ativa
- d. Resultado do PPD positivo, alterações radiológicas e história de contato prévio com TB (infecção prévia ou contato intra-domiciliar).

Após a classificação dos pacientes, de acordo com nosso “*gold standard*”, em positivos (portadores de ITBL) ou negativos (ausência de ITBL), foi construída uma tabela de contingência 2x2, a fim de calcularmos a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) do novo teste (T SPOT.TB), para cada um dos quatro modelos utilizados.

Devido às dificuldades metodológicas já descritas, o VPN seria nosso resultado mais fidedigno, pois não é influenciado pelos resultados positivos do PPD (VPN= D/C+D – Quadro 4). Isto significaria dizer que no caso de um resultado de PPD negativo com T SPOT.TB também é negativo, teríamos a certeza de que não existe ITBL.

		PPD e/ou RX de tórax e/ou contato intra-domiciliar	
		Positivo	Negativo
T-SPOT	Positivo	Verdadeiros positivos A	Falsos Positivos B
	Negativo	Falsos negativos C	Verdadeiros negativos D

Quadro 4 - Combinação binária entre os resultados prováveis obtidos no teste T SPOT TB e o padrão ouro, PPD e/ou RX de tórax e/ou contato intra-domiciliar com infecção tuberculosa.

As informações foram armazenadas no programa Microsoft Excel 2003® e analisadas no pacote estatístico STATA/SE, versão 9.2, utilizando um intervalo de confiança

de 95%. Os testes de significância de associação foram feitos com base no teste Qui-quadrado (χ^2). Para as tabelas 2x2 o χ^2 considerado foi com correção de Yates e quando este não era apropriado, foi usado o teste exato de Fischer.

4.5 Considerações éticas

As abordagens utilizadas no presente trabalho foram aprovadas pelo Comitê de Ética para Estudo em Seres Humanos do CPqAM, FIOCRUZ – Recife (Anexo 3). Todos os voluntários que participaram leram, assinaram e receberam uma cópia do TCLE, antes da realização de qualquer procedimento do estudo.

4.6 Limitações do estudo

Dentre as limitações identificadas em nosso estudo, uma das mais importantes é, sem dúvida, o fato do PPD não ser um padrão ouro adequado para calcularmos a sensibilidade e a especificidade do novo teste. Conforme já descrito no item 4.4, a fim de minimizar a interferência deste problema, criamos quatro modelos de “*gold standard*” para nosso estudo, utilizando o resultado de testes imperfeitos.

Outra limitação encontrada foi durante a composição da amostra. Os voluntários foram selecionados por conveniência, de acordo com a aceitação em participar do estudo e disponibilidade para retornar ao ambulatório para leitura do PPD. Deste modo, não foi possível fazermos o pareamento dos grupos por sexo e idade. Apesar disso, como será descrito no item 5 (Resultados), não encontramos diferenças estatisticamente significantes entre as variáveis sexo e idade entre os dois grupos.

O tamanho da amostra também foi considerado uma limitação, determinado pela disponibilidade dos recursos para aquisição dos *kits* de T-SPOT.TB. Devido a isso, em algumas variáveis, não pudemos fazer muitas estratificações, pois o número de indivíduos se tornava muito pequeno em cada estrato.

5 RESULTADOS

5.1 Estatística descritiva

Foram incluídos no estudo 96 pacientes, sendo 48 do grupo AR e 48 do grupo COMP. A maioria era do sexo feminino nos dois grupos (89,6% no grupo AR e 72,9% no grupo COMP). No grupo AR a média de idade foi de 49,71 anos ($\pm 12,41$; mínimo de 19 e máximo de 78 anos), enquanto no grupo COMP foi de 46,29 anos ($\pm 13,99$; mínimo 21 e máximo de 75 anos).

O tempo médio de diagnóstico da AR foi de 10,2 anos ($\pm 12,41$). Todos os pacientes faziam uso de prednisona, com uma dose média de 12,7 mg/dia ($\pm 6,7$). Dos 48 pacientes, apenas 30 vinha fazendo uso do MTX, com uma dose média de 15,5 mg/semana ($\pm 4,3$). Na Tabela 5 estão resumidas as variáveis clínicas do grupo AR.

Tabela 5 – Descrição das variáveis clínicas no grupo AR

Variáveis	Media \pm DP	Mínimo	Máximo
Idade	49,71 \pm 12,41	19	78
Tempo de diagnóstico (em anos)	10,2 \pm 7,2	1	35
Dose de MTX, em mg/semana (n = 30)	15,5 \pm 4,3	10	25
Dose de prednisona (em mg/dia)	12,7 \pm 6,7	5	30
Tempo de uso da prednisona (em meses)	38,0 \pm 42,8	1	180
Atividade da doença (CDAI)	30,4 \pm 16,9	0	76

MTX = metotrexate; CDAI = *Clinical Disease Activity Index*

As frequências das outras variáveis, bem como a análise comparativa de equivalência nos dois grupos estão demonstradas na Tabela 6. Podemos observar que os dois grupos apresentavam características semelhantes, não havendo diferença estatisticamente significativa nas variáveis idade, sexo, cor, nível de instrução, aglomeração, história de infecção tuberculosa ou contato intra-domiciliar com tuberculose. Apenas nas variáveis renda e procedência foi observada diferença estatística significativa entre os dois grupos ($p=0,017$ e $p=0,034$ respectivamente). Vale salientar que no grupo de comparação

foram incluídos profissionais de saúde que trabalhavam no ambulatório de reumatologia do HC, devido ao risco de infecção tuberculosa latente que este grupo apresenta.

Todos os pacientes, nos dois grupos, apresentavam história de vacinação com BCG na infância, confirmada pela presença da cicatriz no braço direito e nenhum deles apresentava história de alcoolismo, avaliado pelo questionário CAGE.

Tabela 6 - Características dos indivíduos com e sem artrite reumatóide e análise de equivalência entre os grupos

Variáveis	Grupos				Total	
	N	AR	COMP	N	N	%
Sexo						p = 0,067
Feminino	43	89,6	35	78	78	81,3
Masculino	05	10,4	13	18	18	18,8
Faixa etária						p = 0,056
Menor de 40	08	16,7	18	26	26	27,1
De 40 a 59	31	64,6	21	52	52	54,2
60 e mais	09	18,8	09	18	18	18,8
Procedência						P=0,031
Recife e Região Metropolitana	32	66,7	41	73	73	76,0
Zona da Mata, Agreste e Sertão	16	33,2	7	23	23	24,0
Cor						p = 0,512
Branca	14	29,2	18	32	32	33,3
Preta	07	14,6	04	11	11	11,5
Parda	27	56,3	26	53	53	55,2
Nível de instrução						p = 0,100
Universitária	02	4,2	09	11	11	11,5
Médio completo	14	29,2	18	32	32	33,3
Médio incompleto	08	16,7	07	15	15	15,6
Fundamental completo	14	29,2	09	23	23	24,0
Com algum grau de alfabetização ou analfabetos	10	20,9	05	15	15	15,6
Renda (em salários mínimos)						p = 0,017
Menos de 1	17	35,4	07	24	24	25,0
De 1 a menos de 3	24	50,0	23	47	47	49,0
De 3 a menos de 5	05	10,4	08	13	13	13,5
De 5 ou mais	02	4,1	10	12	12	12,6
Aglomeracão						p = 0,99
2 pessoas	41	85,4	42	83	83	86,5
3 ou mais	07	14,6	06	13	13	13,6
TB prévia						p = 0,677
Não	44	91,7	46	90	90	93,8
Sim	04	8,3	02	06	06	6,2
História de contato						
Não	47	97,9	46	93	93	96,9
Sim	01	2,1	02	03	03	3,1
Total	48	100,0	48	96	96	100,0

Dos 48 pacientes do grupo AR, 25% apresentou resultado positivo para o T-SPOT.TB, enquanto apenas 14% foi positivo para o PPD isoladamente. Já no grupo COMP encontramos 35% de resultados positivos para o PPD isolado e 18% de resultados positivos

para o T-SPOT.TB. Nas figuras 17 e 18 podemos observar o número de resultados positivos para ITBL nos quatro modelos e no T-SPOT.TB nos dois grupos.



Figura 17 – Comparação entre o número de resultados positivos nos 4 modelos de padrão ouro para ITBL e no T-SPOT.TB no grupo AR

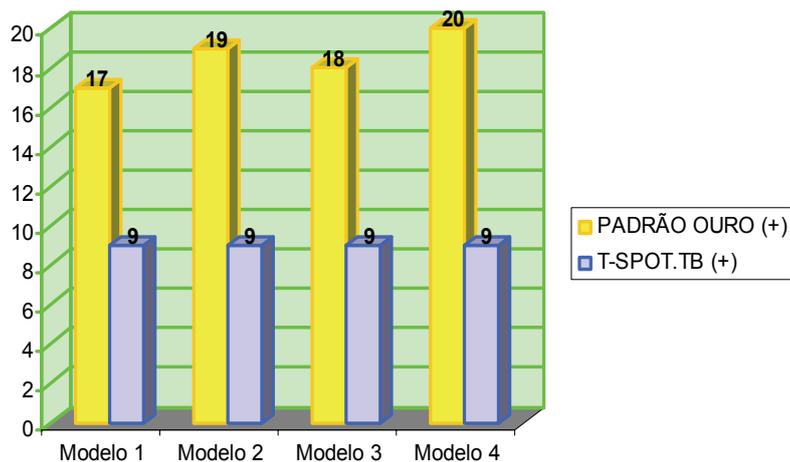


Figura 18 - Comparação entre o número de resultados positivos nos 4 modelos de padrão ouro para ITBL e no T-SPOT.TB no grupo COMP.

5.2 Sensibilidade e Especificidade

Conforme já descrito na Metodologia, realizamos o cálculo da sensibilidade e da especificidade do T-SPOT.TB utilizando a técnica de CPR, onde criamos quatro modelos de padrão ouro para nossa amostra.

No primeiro modelo (Tabela 7), onde utilizamos apenas o resultado do PPD como padrão ouro, nos sete pacientes que apresentaram PPD positivo no grupo AR, o T-SPOT.TB também foi positivo (sensibilidade igual a 100%). Dos 41 pacientes negativos pelo PPD, 36 apresentaram T-SPOT.TB negativo, o que nos dá uma especificidade de 87%. O VPP foi de 58% e o VPN de 100%. A concordância observada (teste κ) foi considerada como perfeita, com um valor de 89,5%.

Quando analisamos os resultados do grupo COMP, a SENS foi de 23% (6 – 49), a ESP igual 83% (66 – 94), enquanto o VPP foi de 44% (13 – 78) e VPN de 65% (48 – 79).

Tabela 7 - Sensibilidade e especificidade do T-SPOT.TB segundo os indivíduos com artrite reumatóide, considerando como teste ouro o PPD (Modelo 1).

T-SPOT.TB	PPD		
	Positivo	Negativo	
Positivo	07	05	SENS = 100% (59,0 – 100,0)
Negativo	00	36	ESP = 87% (73,0 – 95,0)
			VPP = 58% (27,0 – 84,0)
			VPN = 100% (90,0 – 100,0)

Ao analisarmos o modelo 2, que usa o resultado do PPD e/ou alterações radiológicas compatíveis com ITBL (Tabela 8), observamos que 9 pacientes foram identificados como portadores de infecção latente, porém o T-SPOT.TB só foi positivo em 7 deles, levando a uma queda da sensibilidade (77,8%). Trinta e quatro pacientes apresentaram concordância com relação ao resultado negativo em ambos os testes, o que nos dá uma especificidade de 87,2%. O VPP e o VPN foram 58,3 e 94,4% respectivamente. Também neste modelo a concordância foi acima de 80% (85,4%), sendo considerada como perfeita.

No grupo COMP a sensibilidade para este modelo foi 26% (9 – 51), a especificidade foi de 86% (68 – 96), o VPP foi 55% (71 – 94) e o VPN foi 64% (47 – 78).

Tabela 8 - Sensibilidade e especificidade do T-SPOT.TB segundo os indivíduos com artrite reumatóide, considerando como teste ouro o resultado do PPD e/ou RX de tórax alterado (Modelo 2).

T-SPOT.TB	PPD + RX		
	Positivo	Negativo	
Positivo	07	05	S = 77,8% (40,2-96,1) E = 87,2% (71,8- 95,2)
Negativo	02	34	VPP = 58,3% (28,6 – 83,5) VPN = 94,4% (88,0- 99,0)

No terceiro modelo proposto, que associa o resultado do PPD à história de contato intra-domiciliar com TB, tivemos oito pacientes identificados com portadores de ITBL, sendo todos também positivos para o T-SPOT.TB, o que nos dá uma sensibilidade de 100%. Quarenta pacientes apresentaram resultado negativo para este modelo, porém o T-SPOT.TB só foi negativo em 36 deles (especificidade de 90%). O VPN foi 100% e o VPP foi 66%. Mais uma vez a concordância observada foi considerada perfeita (91,7%) (Tabela 9). No grupo COMP tivemos os seguintes resultados para este modelo: sensibilidade de 22% (7,4 – 48,1), especificidade de 83,3% (64,5 – 93,7), VPP de 44,4% (15,3 – 77,3) e VPN de 64,1% (47,2 – 78,3).

Tabela 9 - Sensibilidade e especificidade do T-SPOT.TB segundo os indivíduos com e sem artrite reumatóide considerando o teste ouro o PPD + história de contato intra-domiciliar (Modelo 3).

T-SPOT.TB	PPD + História de contato		
	Positivo	Negativo	
Positivo	08	04	S = 100% (59,8 – 100,0) E = 90,0% (75,4 – 96,7)
Negativo	00	36	VPP = 66,0% (35,4 – 88,7) VPN = 100,0% (88,0 – 100,0)

Finalmente, no modelo 4 (Tabela 10), ao utilizarmos o resultado do PPD e/ou alterações radiológicas compatíveis com ITBL e/ou história de contato intra-domiciliar com TB, tivemos 10 pacientes com diagnóstico de infecção latente pelo modelo e 8 positivos para T-SPOT.TB, o que nos dá uma sensibilidade de 80%. Trinta e oito pacientes apresentaram

resultados negativos no modelo sendo o resultado do T-SPOT.TB negativo em 34 deles (especificidade de 89,5%). O VPP foi 66,7% e o VPN 94,4%, com concordância de 87,5%.

No grupo COMP os resultados observados foram sensibilidade de 25% (8 – 49), especificidade de 85% (67 – 95), VPP de 55% (21 – 86) e VPN de 61% (44 – 76%).

Tabela 10 - Sensibilidade e especificidade do T-SPOT.TB segundo os indivíduos com artrite reumatóide, considerando como teste ouro o resultado do PPD e/ou RX de tórax alterado e/ou história de contato intra-domiciliar (Modelo 4).

T-SPOT.TB	PPD + RX + História de contato intra-domiciliar		
	Positivo	Negativo	
			S = 80,0% (44,2 – 96,5)
Positivo	08	04	E = 89,5% (74,3 – 96,6)
Negativo	02	34	VPP = 66,7% (36,4 – 86,7)
			VPN = 94,4% (80,0 – 99,0)

Na Tabela 11 estão agrupados os resultados de sensibilidade, especificidade, VPP e VPN dos quatro modelos adotados como padrão ouro, a fim de permitir uma melhor visualização para comparação. Podemos considerar os resultados comparáveis, uma vez que os intervalos de confiança, nos quatro modelos, são superponíveis.

Tabela 11 – Comparação entre a sensibilidade, especificidade, VPP e VPN dos quatro modelos adotados como padrão ouro no grupo AR

T-SPOT.TB	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 4
Sensibilidade (%)	100 (59,0 – 100,0)	77,8 (40,2–96,1)	100 (59,8 – 100,0)	80,0 (44,2 – 96,5)
Especificidade (%)	87 (73,0 – 95,0)	87,2 (71,8– 95,2)	90,0 (75,4 – 96,7)	89,5 (74,3 – 96,6)
VPP (%)	58% (27,0 – 84,0)	58,3 (28,6 – 83,5)	66,0 (35,4 – 88,7)	66,7 (36,4 – 86,7)
VPN (%)	100% (90,0 – 100,0)	94,4 (88,0– 99,0)	100,0 (88,0 – 100,0)	94,4 (80,0 – 99,0)

5. 3 Análise de associação univariada

Foram realizadas comparações de associação de todas as variáveis estudadas, nos dois grupos e em nenhuma delas houve associação significativa com o diagnóstico de ITBL

pelo T-SPOT.TB ou por qualquer um dos quatro modelos utilizados como padrão ouro, o que não sugere uma estratificação para a análise de sensibilidade e especificidades.

No entanto, conforme pode ser observado na Tabela 12, a frequência de ITBL diagnóstica pelo PPD isolado no grupo AR foi mais baixa do que aquela encontrada no grupo COMP, o mesmo não ocorrendo quando o diagnóstico foi realizado pelo T-SPOT.TB

Tabela 12 – Comparação entre a frequência de ITBL diagnosticada pelo PPD e pelo T-SPOT.TB nos grupos com e sem AR

ITBL pelo PPD	Frequência (%)	OR (IC)	p-valor
AR	14,6	0,31 (0,11 – 0,84)	0,034
COMP	33,3	1,0	
ITBL pelo T-SPOT.TB	Frequência (%)	OR (IC)	p-valor
AR	25,0	1,44 (0,54 – 3,83)	0,4602
COMP	18,8	1,0	

Também não foram encontradas associações entre as variáveis clínicas da AR, como tempo de uso ou dose de prednisona ou MTX, tempo de duração da doença ou atividade da AR medida pelo CDAI.

6 DISCUSSÃO

De acordo com dados da OMS (Organização Mundial de Saúde, 2007), a TB afeta cerca de 8,8 milhões de pessoas no mundo e causa 1,6 milhões de mortes a cada ano. Após um período de diminuição da incidência em países industrializados, a infecção tuberculosa aparece novamente como um sério problema de saúde pública com implicações sociais consideráveis devido ao envelhecimento da população, movimentos migratórios e situações de imunossupressão, causadas principalmente pela infecção pelo HIV, doenças crônicas e uso de drogas imunossupressoras (CARMONA et al., 2003; CORBETT et al., 2003).

Pacientes com doenças auto-imunes como a AR apresentam um risco elevado de desenvolver todas as infecções, incluindo TB. Este risco aumentado está associado à alterações do sistema imune causado pela própria doença como também pelo uso de drogas imunossupressoras durante o tratamento (BOUZA; MOYA; MUNOZ, 2001; BRASSARD et al., 2006).

Cerca de 400.000 pacientes já foram tratados com drogas inibidoras do TNF- α , número que vem crescendo a cada ano. Devido ao seu mecanismo de ação, o risco de desenvolvimento de infecção tuberculosa em pacientes com AR durante a utilização destas drogas, aumentou consideravelmente (GOMEZ-REINO et al., 2003; CARMONA et al., 2003, BALDIN et al., 2005; FONSECA et al., 2006; DESAI, 2006). Deste modo, *screening* para ITBL – história anterior de TB, realização do PPD e da radiografia do tórax – é obrigatório e de extrema importância, principalmente em nosso meio, onde a tuberculose é endêmica. Desde o final do ano 2000, após o aparecimento de 28 casos de infecção tuberculosa no mundo, durante a utilização de infliximabe, a bula do medicamento foi modificada para incluir as recomendações para realização do *screening*, antes do início do tratamento, adotadas progressivamente a partir de então, pelas sociedades científicas em cada país onde estas drogas são utilizadas (BALDIN et al., 2005).

Apesar de amplamente aceito, o procedimento para *screening* antes do uso do anti-TNF tem sido criticado, pois em várias situações não é capaz de identificar a ITBL. Dentre os problemas descritos temos a possível incerteza do paciente sobre a história médica de contato com TB, a falta de sinais radiográficos específicos de ITBL, além das dificuldades já descritas na utilização do PPD. Deste modo, o uso destes testes pode levar tanto à falta da

quimioprofilaxia com INH, devido à baixa sensibilidade do teste cutâneo na AR ou ainda, ao tratamento desnecessário (no caso de PPD falsamente positivo) (DINSER et al., 2008).

A utilização de testes antígeno-específicos para detecção de $INF\gamma$ tem revolucionado o diagnóstico de ITBL em países de baixa prevalência de TB, já tendo demonstrado uma melhor especificidade do que a do PPD em pessoas imunocompetentes. Em países de alta prevalência ainda existe a dúvida se poderiam auxiliar no diagnóstico de infecção latente. A avaliação do desempenho destes novos testes fica prejudicada pela falta de um padrão ouro que possa diferenciar infecção latente verdadeira de reação cruzada com a vacina BCG ou com infecção por outras micobactérias que não o *M. tuberculosis* (DHEDA et al., 2005).

A fim de contornar o problema do padrão ouro-imperfeito, estudos que analisaram o desempenho destes testes utilizaram técnicas diferentes para determinar a presença de ITBL de uma maneira mais adequada. Em uma meta-análise recente (MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007), os autores estimaram a sensibilidade destes testes utilizando dados de publicações de pacientes com TB ativa ou que avaliavam a concordância destes com o PPD. A especificidade foi calculada através de estudos com pessoas saudáveis com baixa taxa de exposição. Passalent et al. (2006) avaliaram o desempenho do T-SPOT.TB em pacientes portadores de doença renal crônica, submetidos à hemodiálise. Para isso, o padrão ouro utilizado foi uma análise de um grupo de 5 especialistas no tratamento da TB, que diagnosticavam a ITBL baseados nos resultados do PPD, RX de tórax e em dados epidemiológicos. Dinser et al. (2008), em um dos estudos já publicados sobre a utilização destes testes em pacientes portadores de doença articular inflamatória, classificaram os pacientes como portadores de ITBL baseados em um esquema que incluía a história de infecção tuberculosa prévia, o resultado dos testes (PPD ou *in vitro*) e alterações radiográficas suspeitas.

O presente estudo é o primeiro a avaliar o desempenho do T-SPOT.TB no Brasil, em pacientes com AR. A utilização destes novos testes no *screening* de pacientes com AR antes do uso do anti-TNF já ocorre em alguns países da Europa, principalmente nos casos em que o PPD negativo e existem alterações radiográficas sugestivas de infecção latente (EFTHIMIOU; SOOD, 2007; SELLAM et al., 2007).

Ao criarmos quatro modelos diferentes para identificação de infecção latente tínhamos como objetivo minimizar o problema criado pelo padrão ouro imperfeito, somando o resultado de vários testes imperfeitos, a fim de melhorar o desempenho na identificação destes pacientes. De acordo com nossos resultados podemos constatar que, independente do

modelo utilizado, os valores encontrados para sensibilidade, especificidade, VPP e VPN foram bastante semelhantes dentro dos dois grupos (AR e COMP).

A sensibilidade do T-SPOT.TB variou entre 78,8 a 100% no grupo AR. Nos modelos 2 e 4, onde incluímos o resultado do RX no padrão ouro, a sensibilidade foi mais baixa (77,8 e 80%, respectivamente) do que nos modelos 1 e 3. Isso se deve ao fato de que nos dois pacientes que apresentavam RX com alterações compatíveis com infecção latente, o T-SPOT.TB foi negativo. Quando retiramos o RX, a sensibilidade chega a 100%, pois em todos os pacientes com PPD positivo nos modelos 1 e 3, o T-SPOT.TB também foi positivo. No entanto, quando analisamos de forma inversa, na amostra de 48 pacientes, 12 apresentaram o resultado do T-SPOT.TB positivo. Nos modelos 1 e 2, destes 12, apenas 7 apresentaram um resultado positivo no PPD e/ou RX, motivo pelo qual o VPP foi baixo. Nos modelos onde foi incluída a história de contato intra-domiciliar (3 e 4), o número de positivos aumenta de 7 para 8, demonstrando que um paciente apresentava PPD negativo, RX normal e história de contato intra-domiciliar positiva, tendo sido identificado apenas pelo T-SPOT.TB.

No que diz respeito à especificidade no grupo AR, esta variou de 87,2 a 90%, sendo mais elevada no modelo 3 (PPD e história clínica). Cinco pacientes com PPD negativo apresentaram T-SPOT.TB positivo no modelo 1 e 2, enquanto nos modelo 3 e 4, quando incluímos a história clínica ao padrão ouro, este número cai para quatro. Os resultados do VPN foram também elevados (variando de 94,4 – 100% nos 4 modelos), uma vez que o T-SPOT.TB foi capaz de identificar todos os resultados negativos do PPD.

Diante destes resultados podemos dizer que, em nossa amostra, o T-SPOT.TB teria maior utilidade na identificação dos resultados falso-negativos do PPD (12 positivos T-SPOT.TB/ 7 positivos para o PPD), devido a sua maior especificidade. Além disso, ele é capaz de confirmar que, diante de um resultado negativo para o PPD, podemos ter maior segurança de que realmente não existe infecção tuberculosa latente. Analisando os resultados isoladamente podemos notar que nos quatro modelos, o número de casos identificados como infecção latente pelo T-SPOT.TB foi sempre superior aos encontrados por qualquer um dos modelos utilizados. Mesmo quando utilizamos o modelo 4, incluindo PPD, RX e história de contato, quatro pacientes ainda ficam sem diagnóstico, pois apresentaram resultados normais em todos os testes.

Nossos resultados são semelhantes aos já descritos na literatura, porém vale salientar, em nenhum dos trabalhos publicados foi utilizada metodologia semelhante. Estas semelhanças são mais notáveis quando comparamos com trabalhos realizados em países de alta incidência de TB e elevada cobertura vacinal. Em um estudo realizado em Istambul,

Turquia (INANC et al., 2007), foi encontrada uma baixa prevalência de QTF positivo, quando comparado com o PPD, provavelmente reflexo da vacinação com PPD, o que sugere que seria necessário a realização do QTF a fim de evitar tratamento desnecessário com INH. Outro estudo realizado em Lima, Peru (PONCE-DE-LEON et al., 2007), demonstrou que 26.7% dos pacientes apresentaram PPD positivo, comparado com 65,6% nos controles ($p < 0.001$). Em contraste, 44.6% dos pacientes com AR apresentaram QTF positivo, comparado com 59.1% nos controles saudáveis ($p = 0.04$). A concordância entre PPD e QTF foi 70,3% ($\kappa = 0,37$), sendo mais elevada nos casos não vacinados (85%; $\kappa = 0,63$). Em nosso estudo, o percentual de pacientes com PPD positivo no grupo AR foi 14,6%, enquanto no grupo COMP foi 33,3%, diferença estatisticamente significante ($p = 0,034$), o que é semelhante a dados anteriores já publicados, em populações de alta incidência de TB (PONCE-DE-LEON et al., 2005; KÖKER et al., 2007).

Outros trabalhos publicados recentemente, em países de baixa incidência de TB, também demonstram utilidade dos testes *in vitro* no reconhecimento de pacientes portadores de ITBL. Sellam et al. (2007) avaliaram 13 pacientes portadores de doenças auto-imunes, com evidência clínica ou radiográfica de ITBL, independente do resultado do PPD. Dois deles (15%) apresentaram resultados negativos para o teste baseado em liberação de $INF\gamma$, enquanto 5 (38,5%) apresentaram PPD negativo, o que sugere uma maior sensibilidade do teste *in vitro* no diagnóstico de ITBL em pacientes com doença auto-imune. Além disso, nos cinco pacientes com PPD negativo, todos apresentaram positividade no teste *in vitro*, demonstrando também maior especificidade. Dinser et al. (2008) concluíram que o número total de pacientes classificados como portadores de ITBL utilizando o esquema de PPD associado ao RX e à história clínica, foi similar a encontrado utilizando o teste *in vitro*. Os autores chamam atenção para o fato de haver uma maior especificidade deste teste, devido à positividade em casos de PPD negativo, auxiliando na correta identificação dos casos de ITBL.

Identificamos apenas um trabalho em que os autores concluem não haver vantagem na utilização do teste *in vitro*, comparando com o PPD, pois a taxa de concordância entre os dois testes foi baixa (21%) (GOGUS et al., 2007). Neste estudo, o *kit* utilizado foi o Quantiferon-TB-Gold, que parece ter uma sensibilidade e especificidade menores do que a do T-SPOT.TB. De acordo com Ferrara et al. (2006), que realizaram um estudo comparando os dois testes, o número de resultados indeterminados com o Quantiferon é maior, sendo o T-SPOT.TB capaz de produzir maior número de resultados positivos ($p < 0,0001$), inclusive em casos de contatos intra-domiciliares com infecção ativa ($p = 0,0010$).

Dois pacientes em nosso estudo que apresentaram alteração radiológica sugestiva de ITBL foram T-SPOT.TB negativos, o que nos faz pensar se realmente estas alterações estão relacionadas com tuberculose latente, pois de acordo com dados da literatura, os resultados do T-SPOT.TB apresentam uma maior especificidade do que as alterações radiológicas (JOSHI et al., 2007). Um estudo realizado na Índia, país com elevada incidência de TB, com 330 trabalhadores saudáveis demonstrou que cerca de dois terços deles apresentavam anormalidades ao RX compatíveis com ITBL e que estes achados não estavam relacionados com os resultados da resposta aos testes *in vitro* ou com o PPD. A média dos níveis de INF γ assim como do tamanho da endureção do PPD foi semelhante nos indivíduos com e sem alteração radiológica (JOSHI et al., 2007). Isto poderia ser explicado pela baixa sensibilidade do RX em detectar pequenas lesões ou ainda, pela falta de correlação entre a resposta imunológica à antígenos específicos para TB (incluindo o PPD) e a extensão da lesão pulmonar (AL ZAHARANI; AL JAHDALI; MENZIES, 2000; JOSHI et al., 2007)

Apesar disso, a possibilidade de estar de estar sendo subestimada a presença de ITBL não pode ser excluída. Estudos realizados em pessoas normais na Coreia e no Gâmbia, áreas endêmicas de TB, a sensibilidade foi baixa quando comparada com a prevalência de TB conhecida para estes locais (HILL et al., 2004; KANG et al., 2005). Esta baixa sensibilidade pode estar relacionada ao fato de que, apesar de serem específicos para *M. tuberculosis*, estes antígenos não representam todo o espectro de antigenicidade do bacilo. Além disso, em casos de curtos períodos de exposição, a células T de memória não são capazes de liberar quantidade de INF γ suficiente em um ensaio *ex vivo* que leve à positividade do teste.

Interessante notar que apesar de não haver diferença estatisticamente significativa, quando utilizamos o PPD isolado para identificação da ITBL, a frequência desta é mais elevada no grupo COMP do que no grupo AR. Isso poderia dar a falsa impressão de ser a AR um fator protetor para ITBL (OR=0,31; 0,11 – 0,84, p=0,034), provavelmente devido à pouca responsividade do PPD na AR ou pelo número de resultados falsos positivos do PPD (reação cruzada com outras micobactérias ou com a vacina BCG), o mesmo não ocorrendo quando utilizamos o T-SPOT.TB, provavelmente devido a sua maior especificidade.

No grupo COMP os resultados da sensibilidade foram bastante baixos nos 4 modelos, não atingindo 30%. Isso pode ser explicado pelo fato de que a positividade do PPD e/ou RX e/ou história de contato neste grupo foi bem maior, em qualquer dos modelos analisados (17, 19, 18 e 20 casos para os modelos 1,2,3 e 4, respectivamente). Ao analisarmos os resultados do T-SPOT.TB os números de positivos são menores (9 em todos os modelos). Provavelmente estamos diante de resultados falso positivos de ITBL, principalmente às custas

do PPD, que foi positivo isoladamente em 17 casos. Neste caso, o PPD apresenta melhor sensibilidade porém não tem a capacidade de determinar a presença de infecção latente real.

Em todos os estudos realizados para avaliar o desempenho do T-SPOT.TB a grande vantagem demonstrada foi a sua elevada especificidade e VPN, permitindo ter a certeza de que estando diante de um resultado de PPD negativo, realmente não existe infecção latente, não havendo assim o risco de infecção ativa durante o uso do anti-TNF. Além disso, nos permite reconhecer aqueles pacientes que apresentam resultados falso-negativos para o PPD em pacientes com AR. Em nosso estudo podemos observar resultados semelhantes, pois dependendo do modelo utilizado, 4 (modelos 3 e 4) ou 5 pacientes (modelos 1 e 2) não foram identificados pelo nosso padrão ouro, e apresentaram T-SPOT.TB positivo. Estes resultados poderiam nos levar à interpretação de que são casos de resultados falso-positivos; no entanto, como os antígenos recombinantes são específicos do *M. tuberculosis*, provavelmente estamos diante de resultados falso-negativos para o PPD. Caso estes pacientes estivessem sendo triados pelos métodos convencionais (PPD, RX de tórax e história clínica), seriam classificados como normais e estariam sob um risco elevado de desenvolver a infecção ativa.

Apesar de não ser objetivo da presente tese analisar o custo/efetividade da utilização do T-SPOT.TB no diagnóstico da ITBL em nosso meio, algumas considerações sobre este tema são importantes. Analisando o custo isolado da realização do PPD e RX de tórax, este é bem menor do que o de um teste como o T-SPOT.TB, ainda não fabricado no Brasil. Uma ampola do PPD RT-23 custa por volta R\$ 150,00, com quantidade suficiente para realização de 15 testes, o que daria um custo de R\$ 10,00 por teste. Isso somado ao valor do RX, em média R\$ 40,00 por exame, e teríamos um custo de R\$ 50,00 por paciente. Cada *kit* de T.SPOT-TB custa R\$ 9.000,00, sendo possível a realização de 24 testes/*kit*, com um custo total de R\$ 375,00 por paciente, isso se só for realizado o teste *in vitro*. Wrighton-Smith e Zellweger (2006) publicaram um trabalho interessante sobre o assunto, onde analisaram o custo de três modelos de abordagem da ITBL em pessoas saudáveis: PPD isolado, T-SPOT-TB realizado inicialmente e T-SPOT-TB realizado após o PPD (apenas nos resultados positivos), somados aos custos de um tratamento de ITBL, na Suíça. A conclusão foi que o modelo que utiliza o PPD, seguido do T-SPOT.TB seria o menos oneroso, uma vez que evitaria o tratamento desnecessário para ITBL (o custo na Suíça chega a € 931,00), pois seriam identificados os casos de PPD falso-positivos. Evidentemente esta realidade é completamente diferente da nossa, e no caso específico da AR, o maior problema são os resultados falso-negativos. Desta forma, em nosso meio, a relação custo-efetividade seria maior se aplicássemos o T-SPOT.TB durante o *screening* para uso de anti-TNF apenas nos

pacientes que apresentassem resultados de PPD negativos, evitando assim o custo de um tratamento para infecção tuberculosa nos pacientes que não foram corretamente identificados como portadores de ITBL.

Enquanto diagnosticar e tratar ITBL em países desenvolvidos é um componente essencial do controle da TB, esta é uma estratégia de menor importância em países em desenvolvimento. Nestes países, devido ao elevado risco de infecção pela alta incidência e acometimento da população pediátrica, a prioridade do sistema de saúde deve ser o tratamento dos casos ativos, o que promove uma diminuição do risco de transmissão. Além disso, uma proporção substancial da população nestes países tem ITBL e, uma vez que risco destes indivíduos virem a desenvolver infecção ativa é de 5% e cerca 90% das quimioprofilaxias são realizadas completamente, se torna desnecessário adicionar mais este custo (diagnóstico de ITBL) ao programa de controle de TB em países em desenvolvimento. Deste modo, a utilização destes testes nestes locais ficaria restrita a situações que incluem: vigilância epidemiológica, crianças e pacientes desnutridos com tuberculose, infecção tuberculosa em pacientes com SIDA e com AR (DHEDA et al., 2005).

7 CONCLUSÕES



1. A sensibilidade do T-SPOT.TB é equivalente à do padrão ouro, nesta população. Desta forma, diante de um resultado positivo de PPD, podemos dispensar o teste específico, e realizar a quimioprofilaxia com INH antes do uso do anti-TNF.
2. O teste T-SPOT.TB é mais específico do que o PPD, associado ou não ao RX de tórax e história clínica. Assim, em casos onde o PPD é negativo, com RX alterado ou história de contato intra-domiciliar o T-SPOT.TB deveria ser realizado a fim de identificar prováveis resultados falso-negativos.
3. Não foi evidenciada associação das variáveis analisadas, incluindo tempo de diagnóstico, uso de corticosteróide ou metotrexate e atividade da doença com o diagnóstico de ITBL pelo PPD ou pelo T.SPOT-TB, indicando que estas não são capazes de prever a presença ou ausência de ITBL, diagnosticada pelos dois testes.

REFERÊNCIAS

AL ZAHARANI, K., AL JAHDALI, H., MENZIES, D. Does size matter? Utility of size of tuberculin reactions for the diagnosis of mycobacterial disease. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, Palo Alto, v. 162, p. 1419-1422, 2000.

ALETAHA, D.; SMOLEN, J. The Simplified Disease Activity Index (SDAI) and the Clinical Disease Activity Index (CDAI): A review of their usefulness and validity in rheumatoid arthritis. Clinical and Experimental Rheumatology, Pisa, v. 23, sup. 39, p. S100-s108, 2005.

ALONZO, T.A.; PEPE, M.S. Assessing the accuracy of a new diagnostic test when a gold standard does not exist. UW Biostatistics Working Paper Series. University of Washington. Paper 156, 1998. Disponível em:
<<http://www.bepress.com/cgi/viewcontent.cgi?article=1043&context=uwbiostat>>. Acesso: 13 jan. 2008.

AMERICAN THORACIC SOCIETY. Diagnostic Standards and classification of tuberculosis. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, Palo Alto, v. 161, p. 1376-1395, 2000.

ANDERSEN, P. et al. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. Lancet, Londres, v. 23, p. 1099-1104, 2000.

ARNETT, F.C. et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. Arthritis & Rheumatism, Hoboken, v. 31, p. 315-324, 1988.

BAHR, G.M. et al. HLA-DR and tuberculin tests in rheumatoid arthritis and tuberculosis. Annals of the Rheumatic Disease, Londres, v. 48, p. 63-68, 1989.

BALDIN, B. et al. Tuberculosis and infliximab treatment. Presse Medicale, Mouligneux, v. 34, p. 353-357, 2005.

BARNES, P.F. Diagnosis of latent tuberculosis infection: turning glitter to gold. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, Palo Alto, v. 170, p. 5-6, 2004.

BAUMGARTNER, J.D.; CALANDRA, T. Treatment of sepsis: past and future avenues. Drugs, Auckland, v. 57, p. 127-132, 1999.

BAZZONI, F.; BEUTLER, B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. New England Journal of Medicine, Waltham, v. 334, p. 1717-25, 1996.

BEAN, A.G. et al. Structural deficiencies in granuloma formation in TNF gene-targeted mice underlie the heightened susceptibility to aerosol Mycobacterium tuberculosis infection, which is not compensated for by lymphotoxin. Journal of Immunology, Bethesda, v. 15, n. 162, p. 3504-3511, 1999.

BEHAR, S.M. et al. The Use of the T-spot.TB Test to Diagnose Latent Tuberculosis Infection (LTBI) in Rheumatic Disease Patients on Immunosuppressive Therapy. In: American Congress of Rheumatology, 2007, Boston (MA), USA, Abstract N. 1028. <<http://www.abstractsonline.com/viewer/?mkey=%7B4B645B61%2D3963%2D4802%2D8A7D%2DFFE86D8DE308%7D>>. Acesso: 09 dez. 2007.

BENNETT, D.E. et al. Prevalence of Tuberculosis Infection in the U.S. Population. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, Palo Alto, Nov 7, 2007. [Epub ahead of print].

BIERRENBACH, A.L. et al. Incidência de tuberculose e taxa de cura, Brasil, 2000 a 2004. Revista de Saúde Pública, São Paulo, v. 41, supl. 1, p. 24-33, 2007.

BLUMBERG, H.M.; LEONARD, M.K.; JASMER R.M.. Update on the Treatment of Tuberculosis and Latent Tuberculosis Infection. JAMA, Chicago, v. 293, p. 2776-2784, 2005.

BONGARTZ, T. et al. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies. Systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. JAMA, Chicago, v. 295, p. 2275-2285, 2006.

BOUZA, E.; MOYA, J.G.; MUNOZ, P. Infections in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Infectious Disease Clinics of North America, Philadelphia, v. 15, n. 2, p. 335-361, 2001.

BRASSARD, P., KEZOUH, A., SUISSA, S. Anti-rheumatic drugs and the risk of tuberculosis. Clinical Infectious Diseases, Chicago, v. 43, n. 717-722, 2006.

BROCK, I. et al. Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon-gamma test. Respiratory Research, Londres, v. 7, p. 56, 2006 apud MENZIES, D.; PAI, M.; COMSTOCK, G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. Annals of Internal Medicine, Philadelphia, v. 146, n. 5, p. 340-354, 2007.

BUCHAN, G. et al. Interleukin-1 and tumor necrosis factor mRNA expression in rheumatoid arthritis: prolonged production of IL-1 alpha. Clinical and Experimental Immunology, Oxford, v. 73, n. 3, p. 449-455, 1988.

CARMONA, L. et al. Effectiveness of recommendations to prevent reactivation of latent tuberculosis infection in patients treated with tumor necrosis factor antagonists. Arthritis & Rheumatism, Hoboken, v. 52, p. 1766-1772, 2005.

CARMONA, L. et al. Increased Risk of Tuberculosis in Patients with Rheumatoid Arthritis. Journal of Rheumatology, Toronto, v. 30, p. 1436-1439, 2003.

CARMONA, L. et al. The prevalence of rheumatoid arthritis in the general population of Spain. Rheumatology, Oxford, v. 41, n. 1, p. 88-95, 2002.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. Morbidity and Mortality Weekly Report, Atlanta, v. 49 (RR-6), p.1-5, 2000.

CHAPMAN, A.L. et al. Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of Mycobacterium tuberculosis-specific T cells. AIDS, Philadelphia, v. 16, p. 2285-2293, 2002 apud MENZIES, D.; PAI, M.; COMSTOCK, G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. Annals of Internal Medicine, Philadelphia, v. 146, n. 5, p. 340-354, 2007.

CHAPMAN, A.L. Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of Mycobacterium tuberculosis-specific T-cells. AIDS, Philadelphia, v. 16, p. 2285-2293, 2002.

CHARLES, P. et al. Regulation of cytokines, cytokine inhibitors, and acute-phase proteins following anti-TNF-alpha therapy in rheumatoid arthritis. Journal of Immunology, Bethesda, v. 163, n. 3, p. 1521-1518, 1999.

CHEN, Y.F. et al. A systematic review of the effectiveness of adalimumab, etanercept and infliximab for the treatment of rheumatoid arthritis in adults and economic evaluation of their cost-effectiveness. Health Technology Assessment, Southampton, v. 10, p. 1-266, 2006.

Disponível em: <

http://eprints.bham.ac.uk/1/1/Chen_YF%2C_Jobanputra_P._TNF_inhibs_for_RA_HTA_2006.pdf>. Acesso: 13 nov. 2007.

CHOU, C.T. et al. Prevalence of rheumatic diseases in Taiwan: a population study of urban, suburban, rural differences. Journal of Rheumatology, Toronto, v. 1994, n. 2, p. 302-306, 1994.

CIMMINO, M.A. et al. Prevalence of rheumatoid arthritis in Italy: the Chiavari Study. Annals of the Rheumatic Diseases, Londres, v. 57, n. 5, p. 315-318, 1998.

COPE, A.E. et al. Chronic exposure to tumor necrosis factor (TNF) in vitro impairs the activation of T cells through the T cell receptor/CD3 complex; Reversal in vivo by anti-TNF antibodies in patients with rheumatoid arthritis. Journal of Clinical Investigation, Ann Arbor, v. 94, p. 749-760, 1994.

CORBETT, E.L. et al. The growing burden of tuberculosis: global trends and interactions with the HIV epidemic. Archives of Internal Medicine, Chicago, v. 163: p. 1009-1021, 2003.

CORRIGALL, V.M.; GARYFALLOS, G.; PANAYI, G.S. The relative proportions of secreted interleukin-2 and interleukin-10 determine the magnitude of rheumatoid arthritis T-cell proliferation to the recall antigen tuberculin purified protein derivative. Rheumatology, Oxford, v. 38, p. 1203-1207, 1999.

CUSH, J.J.; MATTESON, E.L. Hotline 2001 FDA Advisory Committee Review Safety of TNF Inhibitors. Disponível em:
<<http://www.rheumatology.org/publications/hotline/0901tnf.asp>>. Acesso: 02 nov. 2005.

DABBOUS, O. et al. Tuberculosis in Japanese Patients with Rheumatoid Arthritis Treated with Infliximab: Findings from the Post Marketing Surveillance Trial. In: American Congress of Rheumatology, 2007, Boston (MA), USA, Apresentação oral CRC13. Disponível em:
<<http://www.abstractsonline.com/viewer/?mkey=%7B4B645B61%2D3963%2D4802%2D8A7D%2DFFE86D8DE308%7D>>. Acesso: 09 dez. 2007.

DESAI, S.B.; FURST, D.E. Problems encountered during anti-tumor necrosis factor therapy. Best Practice & Research in Clinical Rheumatology, Londres, v. 20, p. 757-790, 2006.

DHEDA, K. et al. Utility of the antigen-specific interferon- γ assay for the management of tuberculosis. Current Opinion in Pulmonary Medicine; Philadelphia, v. 11, p. 195-202, 2005.

DIEL, R.; WRIGHTON-SMITH, P.; ZELLWEGER, J.P. Cost-effectiveness of interferon-gamma release assay testing for the treatment of latent tuberculosis. European Respiratory Journal, Sheffield, v. 30, n. 2, p. 321-332, 2007.

DINSER, R. et al. Evaluation of latent tuberculosis infection in patients with inflammatory arthropathies before treatment with TNF- α blocking drugs using a novel flow-cytometric interferon- γ release assay. Rheumatology, Oxford, v. 72, p. 212-218, 2008.

EFTHIMIOU, P., SOOD, S. QuantiFERON TB Gold Test: the new standard for screening of latent tuberculosis in patients with rheumatoid arthritis. Annals of the Rheumatic Diseases, Londres, v. 66, p. 276, 2007.

EHLERS, S. et al. Lethal granuloma disintegration in mycobacteria-infected TNFRp55-/- mice is dependent on T cells and IL-12. Journal of Immunology, Bethesda, v. 165, p. 483-92, 2000.

EHLERS, S. Why does tumor necrosis factor targeted therapy reactivate tuberculosis? Journal of Rheumatology, Toronto, v. 32, p. 35-39, 2005.

EHRENSTEIN, M.R. et al. Compromised Function of Regulatory T Cells in Rheumatoid Arthritis and Reversal by Anti-TNF- α Therapy. The Journal of Experimental Medicine, Nova Iorque, v. 200, n. 3, p. 277-285, 2004.

EMERY, P. et al. Mechanisms of depressed delayed-type hypersensitivity in rheumatoid arthritis: the role of protein energy malnutrition. Annals of the Rheumatic Diseases, Londres, v. 43, p. 430-434, 1984.

FERRARA, G et al. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with Mycobacterium tuberculosis: a prospective study. Lancet, Londres, v. 367, n. 22, p. 1328-1334, 2006.

FIRENSTEIN, G.S. Etiology and Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. In HARRIS E.D. Kelley's Textbook of Rheumatology. 7^a. edição. Philadelphia: Editora Elsevier Science (USA), 2005, capítulo 65.

FONSECA, J.E. et al. Tuberculose em doentes reumáticos tratados com antagonistas do factor de necrose tumoral alfa: a experiência portuguesa. Acta Reumatológica Portuguesa, Lisboa, v. 31, p. 247-253, 2006.

FURIN, J.J.; JOHNSON, J.L. Recent advances in the diagnosis and management of tuberculosis. Current Opinion in Pulmonary Medicine, Philadelphia, v. 11, p. 189-194, 2005.

FURST, D.E. et al. Preliminary guidelines for diagnosis and treating tuberculosis in patients with rheumatoid arthritis in immunosuppressive trials or being treated with biological agents. Annals of the Rheumatic Diseases, Londres, v. 61, p. ii62-ii63, 2002.

FURST, D.E. et al. Tumor necrosis factor antagonists: different kinetics and/or mechanisms of action may explain differences in the risk for developing granulomatous infection. Seminars in Arthritis and Rheumatism, Philadelphia, v. 36, p. 159-167, 2006.

GOGUS, F. et al. Comparison of Tuberculin Skin Test and Quantiferon®-TB Gold Test in Patients with Rheumatoid Arthritis Living in a Tuberculosis Endemic Population. In: In: American Congress of Rheumatology, 2007, Boston (MA), USA, Apresentação oral CRC13. Disponível em: <<http://www.abstractsonline.com/viewer/?mkey=%7B4B645B61%2D3963%2D4802%2D8A7D%2DFFE86D8DE308%7D>>. Acesso: 09 dez. 2007.

GÓMEZ-REINO, J.J. et al. Risk of tuberculosis in patients treated with tumor necrosis factor antagonists due to incomplete prevention of reactivation of latent infection. Arthritis & Rheumatism, Hoboken, v. 57, p. 756-761, 2007.

GOMEZ-REINO, J.J. et al. Treatment of rheumatoid arthritis with tumor necrosis factor inhibitors may predispose to significant increase in tuberculosis risk: a multicenter active-surveillance report. Arthritis & Rheumatism, Hoboken, v. 48, p. 2122-2127, 2003.

HELLIWELL, M.G.; PANAYI, G.S.; UNGER, A. Delayed cutaneous hypersensitivity in rheumatoid arthritis: The influence of nutrition and drug therapy. Clinical Rheumatology, Nova Iorque, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1984.

HERNÁNDEZ-CRUZ, B. et al. Tuberculosis prophylaxis in patients with steroid treatment and systemic rheumatic diseases. A case-control study. Clinical and Experimental Rheumatology, Pisa, v. 17, p. 81-87, 1999.

HILL, P.C. et al. Large scale evaluation of enzyme-linked immunospot assay and skin test for the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection against a gradient of exposure in Gambia. Clinical of Infectious Disease, Chicago, v. 38; p. 966-973, 2004.

INANC, N.; AYDIN, S.Z.; ATAGÜNDÜZ, P.; YAVUZ, S.; HANER DİRESKENELI, H. Role of Quantiferon-Tb Gold Test in the Identification of Latent Tuberculosis Infection in Patients with Rheumatoid Arthritis and Ankylosing Spondylitis. In: American Congress of Rheumatology, 2007, Boston (MA), USA, Abstract 1027. Disponível em: <<http://www.abstractsonline.com/viewer/?mkey=%7B4B645B61%2D3963%2D4802%2D8A7D%2DFFE86D8DE308%7D>>. Acesso: 09 deZ. 2007.

ISAACS, J.D.; MORELAND, L.M. Rheumatoid Arthritis. Fast Facts. Oxford, UK, 2002, 13-17.

JICK, S.S. et al. Glucocorticoid Use, Other Associated Factors, and the Risk of Tuberculosis. Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research), Hoboken, v. 55, p. 19–26, 2006.

JOSHI, R. et al. Prevalence of abnormal radiological findings in health care workers with latent tuberculosis infection and correlations with immune response. PLoS ONE, São Francisco, v. 2, n. 8: e805. doi:10.1371/journal.pone.0000805, 2007.

KANG, Y.A. et al. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon- γ assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. JAMA, Chicago, v. 293, p. 2756-2761, 2005.

KEANE, J. et al. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. New England Journal of Medicine, Waltham, v. 11, n. 345, p. 1098-1104, 2001.

KEANE, J. TNF-Blocking agents and tuberculosis: new drugs illuminate an old topic. Rheumatology, Oxford, v. 44, p. 714-720, 2005.

KIM, H.A. et al. *Mycobacterium tuberculosis* infection in a corticosteroid treated rheumatic disease patient population. Clinical and Experimental Rheumatology, Pisa, v. 16, p. 9–13, 1998.

KINGSLEY, G.H.; PITZALIS, C.; PANAYI, G.S. Abnormal lymphocyte reactivity to self-major histocompatibility antigens in rheumatoid arthritis. Journal of Rheumatology, Toronto, v. 14, n. 4, p. 667-673, 1987.

KOGURE, T. et al. Rheumatoid arthritis complicated by *Mycobacterium tuberculosis*. Are there characteristics predisposing to this association? Journal of Clinical Rheumatology, Philadelphia, v. 5, p. 17-21, 1999.

KÖKER, I.H. et al. A low prevalence of purified protein derivative test positivity in Turkish patients with rheumatoid arthritis. Association with clinical features and HRCT findings. Clinical and Experimental Rheumatology, Pisa, v. 25, p. 54-59, 2007.

LALVANI, A. Spotting latent infection: the path to better tuberculosis control. Thorax, Londres, v. 58, p. 916-918, 2003.

LIEBESCHUETZ, S. et al. Diagnosis of tuberculosis in South African children with a T-cell-based assay: a prospective cohort study. Lancet, Londres, v. 364, p. 2196-203, 2004 apud MENZIES, D.; PAI, M.; COMSTOCK, G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. Annals of Internal Medicine, Philadelphia, v. 146, n. 5, p. 340-354, 2007.

LONG, R., GARDAM, M. Tumor necrosis factor- α inhibitors and the reactivation of latent tuberculosis infection. Canadian Medical Association Journal, Ottawa, v. 168. n. 9, p. 1153-1156, 2003.

MANADAN, A.M. et al. Extended Follow-up of Patients with at Positive Tuberculin Skin Test Treated With Etanercept. In: American Congress of Rheumatology, 2007, Boston (MA), USA, Abstract 1023. Disponível em:
<<http://www.abstractsonline.com/viewer/?mkey=%7B4B645B61%2D3963%2D4802%2D8A7D%2DFFE86D8DE308%7D>>. Acesso: 09 dez. 2007.

MANGINI, C.; MELO, F.A.F. Artrite reumatóide, terapia imunossupressora e tuberculose. Revista Brasileira de Reumatologia, São Paulo, v. 43, p. XI-XV, 2003.

MANTOUX, C. Intradermo-réaction de la tuberculine. Comptes rendus de l'Académie des sciences, Paris, 1908, 147: 355-57 apud <http://www.whonamedit.com/synd.cfm/2767.html>. Acesso: 01 nov. 2005.

MARIETTE, X.; SALMON, D.; AND GROUP RATIO. French guidelines for diagnosis and treating latent and active tuberculosis in patients with RA treated with TNF blockers. Annals of the Rheumatic Disease, Londres, v. 62, n. 8, p.791, 2003.

MARINO, S. et al. Differences in reactivation of tuberculosis induced for anti-TNF treatment are based on bioavailability in granulomatous tissue. PLoS Computational Biology, São Francisco, v. 3, n. 10, e194. doi:10.1371/journal.pcbi.0030194, 2007.

MARQUES NETO, J.F. et al. Estudo multicêntrico da prevalência da Artrite Reumatóide do adulto em amostras da população brasileira. Revista Brasileira de Reumatologia, São Paulo, v. 33, n. 5, p. 169-173, 1993.

MARQUES, C.D.L. et al. Epidemiologia das doenças reumáticas no Brasil. In: FREESE, E. Epidemiologia, Políticas e Determinantes das Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil. Recife, Editora Universitária, p. 212-229, 2006.

MARTINS, M.V.B.S. et al. The level of PPD-specific INF- γ -producing CD4⁺ T cells in the blood predicts the in vivo response to PPD. Tuberculosis, Edinburgh, doi: 10.1016/j.tube.2006.07.006, 2006.

MASUR, J.; MONTEIRO, M.G. Validation of the "CAGE" alcoholism screening test in Brazilian psychiatric inpatient hospital setting. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, Ribeirão Preto, v. 16, p. 215-218, 1983.

MAYFIELD, D.; MCLEOD, G.; HALL, P. The CAGE questionnaire: Validation of a new alcoholism instrument. American Journal of Psychiatry, Arlington, v. 131, p. 1121-1123, 1974.

MEIER, T. et al. Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot assay (T SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Disease, Nova Iorque, v. 24, p. 529-536, 2005.

MENZIES, D.; PAI, M.; COMSTOCK, G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. Annals of Internal Medicine, Philadelphia, v. 146, n. 5, p. 340-354, 2007.

MORÁN-MENDONZA, O. et al. Tuberculin skin test size and risk of tuberculosis development: a large population-based study in contacts. International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases, Paris, v. 11, p. 1014-1020, 2007.

NICE – National Institute of Clinical Excellence. Clinical diagnosis and management of tuberculosis and measures for its prevention and control. *Clinical Guideline 33*. Março de 2006. Disponível em: <http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/CG033niceguideline.pdf>. Acesso: 19 nov. 2007.

O'DELL, JR. Rheumatoid arthritis: The disease – diagnosis and clinical features. In IMBODEN, HELLMAN e STONE. *Rheumatology – Current diagnosis and treatment*. USA, Editora McGraw-Hill, Nova Iorque, 2a. edição, p. 161-169, 2007.

Organização Mundial de Saúde - WHO Report 2005. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. Geneva, World Health Organization (WHO/HTM/TB/2005.349). Disponível em: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/. Acesso: 02 dez. 2007.

Organização Mundial de Saúde - WHO Report 2007. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. Geneva, World Health Organization (WHO/HTM/TB/2007.376). Disponível em:

http://www.who.int/tb/publications/global_report/2007/download_centre/en/index.html.
Acesso: 02 dez. 2007.

ORMEROD, L.P. et al. BTS recommendations for assessing risk and managing *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease in patients due to start anti-TNF- α treatment. Thorax, Londres, v. 60, p. 800-805, 2005.

OXLADE, O.; SCHWARTZMAN, K.; MENZIES, D. Interferon-gamma release assays and TB screening in high-income countries: a cost-effectiveness analysis. International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, Paris, v. 11, n. 1, p. 16-26, 2007.

PAI, M et al. Mycobacterium tuberculosis Infection in Health Care Workers in Rural India: Comparison of a Whole-Blood Interferon [gamma] Assay with Tuberculin Skin Testing. JAMA, Chicago, v. 293, p. 2746-2755, 2005.

PAI, M.; RILLEY, L.W.; COLFORD, J.M. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. The Lancet Infectious Disease, Londres, v. 4; p. 761-776, 2004.

PANAYI, G.; CORRIGAL, V.; PITZALIS, C. Pathogenesis of rheumatoid arthritis. The role of cells and others beasts. Rheumatic Diseases Clinics of North America, Philadelphia, v. 161, p. 221-247, 2001.

PASSALENT, L. et al. Detecting latent tuberculosis infection in hemodialysis patients: a head-to-head comparison of the T-SPOT.TB test, tuberculin skin test, and the expert physician panel. Clinical Journal of American Society of Nephrology, Washington, v. 2, p. 68-73, 2006 apud MENZIES, D.; PAI, M.; COMSTOCK, G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. Annals of Internal Medicine, Philadelphia, v. 146, n. 5, p. 340-354, 2007.

PIANA, F. et al. Use of a T-cell-based test for detection of tuberculosis infection among immunocompromised patients. European Respiratory Journal, Sheffield, v. 28, p. 31-34, 2006 apud MENZIES, D.; PAI, M.; COMSTOCK, G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. Annals of Internal Medicine, Philadelphia, v. 146, n. 5, p. 340-354, 2007.

PITTIUS, N.C.G. The ESAT-6 gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* and other high G+C Gram-positive bacteria. Genome Biology, Londres, v. 2, research 0044.1-0044.18, 2001.

PONCE DE LEÓN, D. et al. Attenuated response to purified protein derivate in patients with rheumatoid arthritis: study in a population with high prevalence of tuberculosis. Annals of the Rheumatic Diseases, Londres, v. 64, p. 1360-1361, 2005.

PONCE DE LEON, D. et al. Comparison of an Interferon- γ assay with Tuberculin Skin Testing for the detection of Tuberculosis Infection in Rheumatoid Arthritis patients in a TB endemic population. In: American Congress of Rheumatology, 2007, Boston (MA), USA, Abstract 1578. Disponível em: <<http://www.abstractsonline.com/viewer/?mkey=%7B4B645B61%2D3963%2D4802%2D8A7D%2DFFE86D8DE308%7D>>. Acesso: 09 dez. 2007.

PORTER, S.B. Current status of Clinical trials with anti-TNF. Chest, Northbrook, v. 112, p. 339-341, 1997.

PROVENZANO, G.; FERRANTE, M.C.; SIMON, G. TB screening and anti-TNF- α treatment. Thorax, Londres, v. 60, p. 612-615, 2005.

RINDFLEISCH, J.A.; MULLER, D. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis. American Family Physician, Kansas City, v. 72, n. 6, p. 1037-1047, 2005.

ROSENBERG, A.E. Bones, joints and soft tissue tumors. In KUMAR: ROBBINS AND COTRAN: Pathologic Basis of Disease, Philadelphia, Editora Elsevier – Saunders, 7a. Edição, Capítulo 26, 2005.

RUSSO, C.; POLOSA, R. TNF- α as a promising therapeutic target in chronic asthma: a lesson from rheumatoid arthritis. Clinical Science, Londres, v. 109, p. 145-142, 2005.

SATO, E.I. et al. Estudo da prevalência de artrite reumatóide em população de origem japonesa em Moji das Cruzes, São Paulo. Revista Brasileira de Reumatologia, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 133-136, 1990.

SELLAM, J. et al. Comparison of in vitro-specific blood tests with tuberculin skin test for diagnosis of latent tuberculosis before anti-TNF therapy. Annals of the Rheumatic Diseases, Londres, *published on line first: 24 April 2007*. Doi: 10.1136/ard.2007.069799.

SELLAS, A. et al. Late Tuberculosis in Patients with Rheumatoid Arthritis and Anti-TNF Alfa Therapy. Four Cases in a Single Center. In: American Congress of Rheumatology, 2007, Boston (MA), USA, Abstract 1029. Disponível em: <<http://www.abstractsonline.com/viewer/?mkey=%7B4B645B61%2D3963%2D4802%2D8A7D%2DFFE86D8DE308%7D>>. Acesso: 09 dez. 2007.

SENN, E.R. et al. Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. Journal of Rheumatology, Toronto, v. 31, p. 594-597, 2004.

SEONG, S. et al. Incidence of Tuberculosis in Korean Patients with Rheumatoid Arthritis (RA): Effects of RA Itself and of Tumor Necrosis Factor Blockers. Journal of Rheumatology, Toronto, v. 34, n. 4, p. 706-711, 2007.

SHANGA, O. Epidemiology of rheumatic diseases. Rheumatology, Oxford, v. 39, supl. 2, p. 3-12, 2000.

SICHLETIDIS, L. et al. Tuberculosis in patients receiving anti-TNF agents despite chemoprophylaxis. International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, Paris, v. 10, n. 10, p. 1127-1132, 2006.

SILVA JR, J.B. Tuberculose: Guia de Vigilância Epidemiológica. Jornal Brasileiro de Pneumologia, São Paulo, 2004. Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-37132004000700003&lng=en&nrm=iso>. Acesso: 31 mai. 2007.

Sistema nacional de vigilância em saúde: relatório de situação : Pernambuco / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 2ª. edição. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relatorio_snvs_pe_2ed.pdf. Acesso: 09 fev. 2008.

SOBORG, B. et al. Divergent results of screening tests for *M.tuberculosis* infection among candidates for anti-tnf therapy call for new screening guidelines. In: American Congress of Rheumatology, 2007, Boston (MA), USA, Abstract 1021. Disponível em:
<<http://www.abstractsonline.com/viewer/?mkey=%7B4B645B61%2D3963%2D4802%2D8A7D%2DFFE86D8DE308%7D>>. Acesso: 09 dez. 2007.

STENGER, S. Immunological control of tuberculosis: role of tumor necrosis factor and more. Annals of the Rheumatic Diseases, Londres, v. 64, p. iv24-iv28, 2005.

SUWA, A. et al. Whole Blood Interferon-Gamma Assay is Useful to Assess the Risk of Latent Tuberculosis Infection in Patients with Rheumatoid Arthritis. In: American Congress of Rheumatology, 2007, Boston (MA), USA, Abstract 1032. Disponível em:
<<http://www.abstractsonline.com/viewer/?mkey=%7B4B645B61%2D3963%2D4802%2D8A7D%2DFFE86D8DE308%7D>>. Acesso: 09 dez. 2007.

TAKENO, M. et al. Screening of Mycobacterium Tuberculosis by Immunological Diagnosis Using ELISPOT Technique before Anti-TNF Therapy. In: American Congress of

Rheumatology, 2007, Boston (MA), USA, Abstract 1030. Disponível em:
<<http://www.abstractsonline.com/viewer/?mkey=%7B4B645B61%2D3963%2D4802%2D8A7D%2DFFE86D8DE308%7D>>. Acesso: 09 dez. 2007.

TEIXEIRA, E.G. et al. Latent tuberculosis infection among undergraduate medical students in Rio de Janeiro State, Brazil. International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases, Paris, v. 9, p. 841-847, 2005.

THORBECKE, G.J. et al. Involvement of endogenous tumor necrosis factor α and transforming growth factor β during induction of collagen type II arthritis in mice. Proceedings of the National Academy of Sciences, Washington, v. 89, p. 7375-7379, 1992.

TUBACH, F. et al. Definitive Results of the National French Prospective RATIO 3-Year Observatory on Tuberculosis in Patients Treated with TNF Blockers: The Risk Persists but Depends on the Drug. In: American Congress of Rheumatology, 2007, Boston (MA), USA, Abstract 1033. Disponível em:
<<http://www.abstractsonline.com/viewer/?mkey=%7B4B645B61%2D3963%2D4802%2D8A7D%2DFFE86D8DE308%7D>>. Acesso: 09 dez. 2007.

TUTUNCU, Z.; KAVANAUGH, A. Anticytokine Therapies. In: HARRIS: Kelley's Textbook of Rheumatology, Philadelphia, Editora Elsevier Saunders, 7a. edição, Capítulo 61, 2005.
VAN RIEL, P.L.C.M; FRANSEN, J. Established rheumatoid arthritis: clinical assessments. Best Practice Research in Clinical Rheumatology, Londres, v. 21, p. 807-825, 2007.

WAJDULA, J. et al. Tuberculosis Incidence Low in Double-Blind and Open-Label Etanercept Studies in Patients with Rheumatoid Arthritis. In: American Congress of Rheumatology, 2007, Boston (MA), USA, Abstract 1022. Disponível em:
<<http://www.abstractsonline.com/viewer/?mkey=%7B4B645B61%2D3963%2D4802%2D8A7D%2DFFE86D8DE308%7D>>. Acesso: 09 dez. 2007.

WALLIS, R.S. et al. Granulomatosis infectious diseases associated with tumor necrosis factor antagonists. Clinical Infectious Diseases, Chicago, v. 38, p. 1261-1265, 2004.

WALLIS, R.S. Reactivation of latent tuberculosis by TNF blockade: the role of interferon gamma. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings, Nova Iorque, v. 12, p. 16-21, 2007.

WEYAND, C.M. et al. The influence of HLA-DRB1 genes on disease severity in rheumatoid arthritis. Annals of Internal Medicine, Philadelphia, v. 117, p. 801, 1992.

WHALEN, C.C. Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection. Measure for Measure. JAMA, Chicago, v. 293, n. 22, p. 2785-2787, 2005.

WILLIAMS, R.O.; FELDMANN, M.; MAINI, R.N. Anti-tumor necrosis factor ameliorates joint disease in murine collagen-induced arthritis. Proceedings of the National Academy of Sciences, Washington, v. 89, p. 9784-9788, 1992.

WOLFE, F. et al. Tuberculosis infection in patients with rheumatoid arthritis and the effect of infliximab therapy. Arthritis & Rheumatism, Hoboken, v. 50, p. 372-379, 2004.

WOOLEY, P.H. et al. Influence of a recombinant human soluble tumor necrosis factor receptor Fc fusion protein on type II collagen-induced arthritis in mice. Journal of Immunology, Bethesda, v. 151, p. 6602-6607, 1993.

WRINGHTON-SMITH, P.; ZELLWEGER, J.P. Direct costs of three models for the screening of latent tuberculosis infection. European Respiratory Journal, Sheffield, v. 28, n. 1, p.45-50, 2006.

YAMADA, T. et al. Increased risk of tuberculosis in patients with rheumatoid arthritis in Japan. Annals of the Rheumatic Diseases, Londres, v. 65, p.1661–1663, 2006.

YOSHINAGA, Y. et al. Clinical characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* infection among rheumatoid arthritis patients. Modern Rheumatology, Tokyo, v. 14, p. 143-148, 2004.



APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Versão 1 – Grupo Artrite Reumatóide

Título: Avaliação do Teste T SPOT-TB no diagnóstico de infecção tuberculosa latente em pacientes com Artrite Reumatóide

Investigadora Principal: Dra. Cláudia Diniz Lopes Marques

Orientadores: Dr. Eduardo Freese e Dra. Yara Gomes

Unidade: Hospital das Clínicas – Universidade Federal de Pernambuco

Av. Prof. Moraes Rego, s/n

50690-901 – Recife/PE

Você está sendo convidado (a) para participar de um estudo clínico, pois é portador de Artrite Reumatóide (uma doença das articulações, que pode causar deformidade e incapacidade) e vai utilizar a medicação infliximabe.

Através deste documento, você será informado (a), em detalhes, sobre o estudo acima. Sua participação é totalmente voluntária, e caso decida não participar após a leitura deste documento, não haverá nenhum prejuízo para o seu tratamento neste hospital.

Caso decida participar, será solicitado, ao final da leitura deste documento e tendo recebido as explicações sobre o estudo, que assine este documento no local indicado, para confirmar que recebeu todas as informações necessárias.

O objetivo deste estudo é tentar identificar aquelas pessoas que tem o bacilo da tuberculose no organismo e que ainda não desenvolveram a doença. Estas pessoas podem, ao utilizar o medicamento infliximabe, ativar a doença que se encontrava latente (em repouso) vindo, portanto a desenvolver a tuberculose. Hoje em dia dispomos apenas do teste PPD ou teste de Mantoux para diagnóstico destes casos. Em pessoas com artrite reumatóide, o PPD não é um exame adequado, pois pode ser negativo mesmo na presença do bacilo da tuberculose. O T SPOT-TB é um novo exame, que tem o mesmo objetivo do PPD, de identificar quem já teve contato prévio com tuberculose, porém ele é mais eficaz, pois permite que se faça o diagnóstico num maior número de pessoas, diminuindo assim os resultados falsos negativos (pessoas que tem a doença mas o resultado do teste é negativo). Desta forma, a utilização do infliximabe, uma medicação importante para o controle da sua doença, se tornará mais segura.

Para participar, será necessário que você compareça a duas consultas. Na primeira consulta será realizada uma entrevista, para preenchimento de um questionário, com perguntas sobre seu histórico (incluindo contatos com pessoas com tuberculose ou tratamentos anteriores também para tuberculose e se tomar bebida alcoólica que quantidade você toma) e outras para determinar em que classe social você se encontra.

Após a consulta será realizada a coleta de 8 ml de sangue (o equivalente a uma colher de sobremesa), através de uma veia no seu braço, utilizando seringa estéril e descartável e ser feita por um profissional capacitado, onde será realizado o teste T SPOT-TB. Esta amostra de sangue será utilizada única e exclusivamente para este estudo e não poderá ser utilizada para pesquisas futuras.

Em seguida, será feita a inoculação em seu antebraço direito (uma injeção abaixo da pele) do teste PPD, que é uma substância que reage na pele quando a pessoa está com o bacilo da tuberculose. Uma radiografia de tórax será realizada em todos os participantes deste estudo, para verificar se houve um contato prévio com a doença.

Após 72h (três dias), você deverá retornar ao Hospital para que possamos fazer a leitura do PPD, onde será medido com uma régua o tamanho da reação ocorrida no seu braço.

O estudo em si não lhe trará nenhum risco de vida. Os riscos que podem existir são os de uma coleta comum de sangue, como hematoma (mancha roxa) e dor no local da punção, e mais raramente, tromboflebite, que é uma infecção no vaso que foi realizado a coleta. As reações que podem ocorrer devido ao PPD são passageiras, e incluem: reações alérgicas, formação de bolhas ou necrose (ferida) no local da aplicação, sendo que estas reações são bastante raras. Caso ocorram, você deve comunicar imediatamente ao médico responsável por esta pesquisa para que seja feito o tratamento adequado neste hospital. Como a exposição à radiação do exame de RX pode prejudicar o feto, caso você esteja grávida não poderá participar deste estudo, por isso é importante que você comunique este fato ao médico responsável. Um capote abdominal de chumbo será utilizado em todas as mulheres com potencial de gravidez para proteção em caso de uma gestação desconhecida.

A principal vantagem da participação no estudo será que caso você apresente um dos testes com resultado positivo, será iniciado um tratamento de prevenção do aparecimento da tuberculose, com a droga isoniazida durante 6 meses, antes do início do tratamento com infliximabe, o que tornará a sua utilização muito mais segura. Além disso, caso fique provado que o T SPOT-TB é melhor que o PPD para diagnóstico de contato com tuberculose, isto irá beneficiar outras pessoas que necessitam utilizar drogas do tipo do infliximabe.

Você será informado de qualquer alteração no estudo ou qualquer nova observação pertinente ao mesmo. Através deste estudo será possível saber se você tem infecção tuberculosa que ainda não se manifestou e assim, poderá ser tratado adequadamente. Estes dados serão úteis não só pra você, mas para todas as pessoas que necessitam de um diagnóstico rápido para tuberculose. A sua participação neste estudo será documentada e mantida confidencialmente, sendo disponíveis apenas para as autoridades de saúde e os pesquisadores responsáveis. Solicitamos também a sua autorização

para publicar os resultados deste estudo em congressos e revistas científicas, sem que o seu nome apareça.

Esclarecemos também que você pode abandonar o estudo a qualquer momento, se assim desejar, sem que isso resulte em qualquer penalidade ou perda de seus direitos nesta instituição. Você não receberá compensação financeira por sua participação neste estudo. Se eventuais danos decorrentes deste estudo ocorrerem, seus direitos legais estarão preservados, como também não terá nenhum gasto. Se você ainda tiver qualquer dúvida ou outras perguntas relativas a este estudo ou aos seus direitos, no que diz respeito à sua participação, ou ainda para comunicar eventos adversos, pode contatar a Dra. Cláudia Diniz Lopes Marques através do telefone 3454.0155 ou 88398667.

Este documento consta de duas vias, que serão igualmente assinadas, ficando uma com você e outra de posse do investigador. Assinando abaixo, você concorda em seguir as instruções das pessoas que estão conduzindo e monitorizando este estudo, de forma a obter o máximo de benefícios da atenção médica oferecida por esta pesquisa.

Data: _____/_____/2007

Nome do paciente: _____

RG Nº _____

Assinatura: _____

Endereço: _____

Nome da testemunha: _____

Assinatura: _____

Nome do investigador: Cláudia Diniz Lopes Marques

Assinatura: _____

Endereço: Hospital das Clínicas – Departamento de Medicina Interna – Disciplina de Reumatologia

APÊNDICE B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Versão 2 – Grupo de Comparação

Título: Avaliação do Teste T SPOT-TB no diagnóstico de infecção tuberculosa latente em pacientes com Artrite Reumatóide

Investigadora Principal: Dra. Cláudia Diniz Lopes Marques

Orientadores: Dr. Eduardo Freese e Dra. Yara Gomes

Unidade: Hospital das Clínicas – Universidade Federal de Pernambuco

Av. Prof. Moraes Rego, s/n

50690-901 – Recife/PE

Você está sendo convidado (a) a participar de um estudo clínico. Através deste documento, você será informado (a), em detalhes, sobre o estudo acima. Sua participação neste estudo é totalmente voluntária, e caso decida não participar após a leitura deste documento, não haverá nenhum prejuízo para o seu tratamento neste hospital.

Você foi selecionado (a) para participar deste estudo, pois não possui nenhuma doença que cause inflamação nas articulações e será incluído num grupo chamado de **Grupo de Comparação**. O outro grupo será constituído de pessoas portadoras de Artrite Reumatóide (uma doença das articulações, que pode causar deformidade e incapacidade) e que irão se submeter ao tratamento com um remédio chamado infliximabe.

O objetivo deste estudo é tentar identificar aquelas pessoas que tem o bacilo da tuberculose no organismo e que ainda não desenvolveram a doença. Estas pessoas podem, ao utilizar o medicamento infliximabe, ativar a doença que se encontrava latente (em repouso) vindo, portanto a desenvolver a tuberculose. Hoje em dia dispomos apenas do teste PPD ou teste de Mantoux para diagnóstico destes casos. Em pessoas com artrite reumatóide, o PPD não é um exame adequado, pois pode ser negativo mesmo na presença do bacilo. O T SPOT-TB é um novo exame, que tem o mesmo objetivo do PPD, ou seja, identificar quem já teve contato prévio com tuberculose, porém ele é mais eficaz, pois permite que se faça o diagnóstico num maior número de pessoas, diminuindo assim a quantidade de resultados falsos negativos (pessoas que tem a doença, mas o resultado do teste é negativo). Deste modo, a utilização do infliximabe, uma medicação importante no controle da Artrite Reumatóide, se tornará muito mais segura.

A presença do grupo de comparação é essencial para podermos analisar o comportamento dos dois testes em pessoas normais e comparar com o comportamento em pessoas com artrite reumatóide. Baseados nestas diferenças é que poderemos demonstrar a superioridade do T SPOT-TB para identificar casos de contato com tuberculose na Artrite Reumatóide. Caso decida participar, será solicitado ao final da leitura deste documento e tendo recebido as explicações sobre o estudo, que assine este documento no local indicado, para confirmar que recebeu todas as informações necessárias. Para participar, será necessário que você compareça a duas consultas. Na primeira consulta será realizada uma entrevista, para preenchimento de um questionário, com perguntas sobre seu histórico (incluindo contatos com pessoas com tuberculose ou tratamentos anteriores também para tuberculose e se tomar bebida alcoólica que quantidade você toma) e outras para determinar em que classe social você se encontra.

Após a consulta será realizada a coleta de 8 ml de sangue (o equivalente a uma colher de sobremesa), através de uma veia no seu braço, utilizando seringa estéril e descartável e ser feita por um profissional capacitado, onde será realizado o teste T SPOT-TB. Esta amostra de sangue será utilizada única e exclusivamente para este estudo e não poderá ser utilizada para pesquisas futuras.

Em seguida, será feita a inoculação em seu antebraço direito (uma injeção abaixo da pele) do teste PPD, que é uma substância que reage na pele quando a pessoa está com o bacilo da tuberculose. Uma radiografia de tórax será realizada em todos os participantes deste estudo, para verificar se houve um contato prévio com a doença.

Após 72h (três dias), você deverá retornar ao Hospital para que possamos fazer a leitura do PPD, onde será medido com uma régua o tamanho da reação ocorrida no seu braço.

O estudo em si não lhe trará nenhum risco de vida. Os riscos que podem existir são os de uma coleta comum de sangue, como hematoma (mancha roxa) e dor no local da punção (da furada), e mais raramente, tromboflebite, que é uma infecção no vaso que foi realizado a coleta. As reações que podem ocorrer devido ao PPD são passageiras, e incluem: reações alérgicas, formação de bolhas ou necrose (ferida) no local da aplicação, sendo que estas reações são bastante raras. Caso ocorram, você deve comunicar imediatamente ao médico responsável por esta pesquisa para que seja feito o tratamento adequado. Como a exposição à radiação do exame de RX pode prejudicar o feto, caso você esteja grávida não poderá participar deste estudo, por isso é importante que você comunique este fato ao médico responsável. Um capote abdominal de chumbo será utilizado em todas as mulheres com potencial de gravidez para proteção em caso de uma gestação desconhecida.

Um dos benefícios da sua participação no estudo será que, caso fique provado que o T SPOT-TB é melhor que o PPD para diagnóstico de contato com tuberculose, isto irá beneficiar outras pessoas que necessitam utilizar drogas do tipo do infliximabe. Além disso, caso você apresente um resultado positivo em qualquer um dos testes, será comunicado e chamado para avaliação da presença de infecção tuberculosa e, se necessário, será tratado.

Você será informado de qualquer alteração no estudo ou qualquer nova observação pertinente ao mesmo. Estes dados serão úteis para todas as pessoas que necessitam de um diagnóstico rápido para tuberculose. A sua participação neste estudo será documentada e mantida confidencialmente, sendo disponíveis apenas para as autoridades de saúde e os pesquisadores responsáveis. Solicitamos também a sua autorização para publicar os resultados deste estudo em congressos e revistas científicas, sem que o seu nome apareça.

Esclarecemos também que você pode abandonar o estudo a qualquer momento, se assim desejar, sem que isso resulte em qualquer penalidade ou perda de seus direitos nesta instituição. Você não receberá compensação financeira por sua participação neste estudo. Se eventuais danos decorrentes deste estudo ocorrerem, seus direitos legais estarão preservados, como também não terá nenhum gasto. Se você ainda tiver qualquer dúvida ou outras perguntas relativas a este estudo ou aos seus direitos, no que diz respeito à sua participação, ou ainda para comunicar eventos adversos, pode contatar a Dra. Cláudia Diniz Lopes Marques através do telefone 3454.0155 ou 88398667.

Este documento consta de duas vias, que serão igualmente assinadas, ficando uma com você e outra de posse do investigador. Assinando abaixo, você concorda em seguir as instruções das pessoas que estão conduzindo e monitorizando este estudo, de forma a obter o máximo de benefícios da atenção médica oferecida por esta pesquisa.

Data: _____/_____/2007

Nome do paciente: _____

RG Nº _____

Assinatura: _____

Endereço: _____

Nome da testemunha: _____

Assinatura: _____

Nome do investigador: Cláudia Diniz Lopes Marques

Assinatura: _____

Endereço: Hospital das Clínicas – Departamento de Medicina Interna – Disciplina de Reumatologia



ANEXO A

Critérios de Classificação para Artrite Reumatóide do Colégio Americano de Reumatologia

1) Rigidez matinal	Dentro e ao redor das articulações com duração mínima de 1 hora antes da melhora máxima.
2) Artrite de três ou mais articulações	Aumento de partes moles ou derrame articular, em pelo menos 3 articulações, observado por um médico. As 14 possíveis áreas são: interfalangeanas proximais (IFP's), punhos, cotovelos, metacarpofalangeanas (MCF's), joelhos, tornozelos e metatarsofalangeanas (MTF's), direita e esquerda.
3) Artrite nas articulações das mãos	Pelo menos uma área edemaciada em punhos, MCF's e/ou IFP's.
4) Artrite simétrica	Envolvimento simultâneo das mesmas áreas definidas em 2, em ambos os lados do corpo (envolvimento bilateral de IFP's, MCF's ou MTF's é aceitável sem uma absoluta simetria)
5) Nódulos reumatóides	Nódulos subcutâneos, nas proeminências ósseas, superfícies extensoras ou regiões justa-articulares, observados pelo médico
6) Fator reumatóide	Demonstração de títulos elevados de Fator Reumatóide por qualquer método desde que os resultados tenham sido positivos em menos de 5% de indivíduos normais.
7) Alterações radiológicas	Alterações típicas de AR em radiografias anteroposteriores de mãos e punhos incluem erosões ou osteopenia justa-articular
Para um paciente ser classificado como portador de artrite reumatóide ele deve apresentar pelo menos 4 destes 7 critérios.	

ARNETT *et al*, 1987

ANEXO B

Ficha de Avaliação

Nome:		Registro:			
Endereço:					
Telefone:					
Natural:			Procedente:		
Idade:			Sexo: 1. Feminino		2. Masculino
Cor:	1. Branca	2. Preta	3. Parda	4. Amarela	5. Indígena
Diagnóstico:		1. AR		2. Controle	
Tempo de diagnóstico:					
Medicações em uso:					
Metotrexate () Dose: _____ Tempo: _____					
Prednisona () Dose: _____ Tempo: _____					
Outras (): _____					

Profissão:					
Nível de instrução					
1. Universitária					
2. Ensino Médio Completo					
3. Ensino Médio Incompleto					
4. Ensino fundamental Completo					
5. Alfabetizados (com algum grau de ensino fundamental)					
6. Analfabetos (pessoas que não sabem ler nem escrever)					
Renda Familiar:			Quantas pessoas compõem a renda familiar?		
1. De 0 até 1 SM			1. Uma		
2. De 1 até 3 SM			2. Duas		
3. De 3 até 5 SM			3. Três		
4. De 5 até 10 SM			4. Quatro		
5. Acima de 10 SM			5. Mais de quatro		
Condições de Moradia					
Número de cômodos			Aglomerado (de acordo com o número de pessoas que dormem no mesmo quarto)		
1. Um			1. 2 pessoas		
2. Dois a três			2. 3 pessoas		
3. Quatro a cinco			3. 4 pessoas ou mais		
4. Mais de cinco					
Bens			Condições saneamento		
1. Televisão			1. Abastecimento de água		
2. Fogão			2. Banheiro ou sanitário		
3. Geladeira			3. Esgotamento sanitário		
4. Freezer					
5. DVD					
6. Carro					
7. Máquina de lavar					
8. Rádio					
9. Telefone					
História de contato prévio com portador de tuberculose?					
1. Sim 2. Não					
Você faz uso de bebida alcoólica: 1. Sim 2. Não					
Em caso afirmativo, responda as seguintes questões:					
Teste de CAGE					
1. Você já tentou diminuir ou cortar a bebida?				Sim	Não
2. Você já ficou incomodado ou irritado com outros porque criticaram seu jeito de beber?					

3. Você já se sentiu culpado por causa do seu jeito de beber?						
4. Você já teve que beber para aliviar os nervos ou reduzir os efeitos de uma ressaca ?						
Determinação da Atividade da Doença						
Articulação	Edema		Dor			
	Direita	Esquerda	Direita	Esquerda		
Ombros						
Cotovelos						
Punhos						
MCF1						
MCF2						
MCF3						
MCF4						
MCF5						
IFP1						
IFP2						
IFP3						
IFP4						
IFP5						
Joelhos						
			Total edemaciadas =		Total dolorosas =	
EVA PACIENTE:						
EVA MÉDICO:						
Dolorosas						
Edemaciadas						
EVA paciente						
EVA médico						
Total CDAI						
Resultado RX Tórax	Normal ()		Alterado ()			
			<ol style="list-style-type: none"> 1. Nódulos calcificados 2. Fibrose apical 3. Cicatriz pleural 			
PPD	Data:		Resultado			

ANEXO C

Carta de aprovação do CEP/ CPqAM/FIOCRUZ



Título do Projeto: “Avaliação do teste T-SPOT-TB no diagnóstico de infecção tuberculosa latente em pacientes com artrite reumatóide”
Pesquisador responsável: Cláudia Diniz Lopes Marques
Instituição onde se realizará o projeto: Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ - Hospital das Clínicas/UFPE
Data de apresentação ao CEP: 25/01/2006
Registro no CEP/CPqAM/FIOCRUZ: 02/06
Registro no CAAE: 0782.0.095.000-06

O Comitê de Ética em Pesquisas do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, em 10 de maio de 2006, emitiu parecer do projeto supra citado, considerando-o *aprovado*. Em seu parecer, o CEP/CPqAM indica que o Parecer Consubstanciado deverá ser encaminhado à CONEP e à ANVISA segundo a Res. 196/96 e a Res. 251/97, uma vez que o referido projeto se enquadra na categoria Áreas Temáticas Especiais: pesquisa envolvendo novos fármacos e vacinas.

Em 12 de junho de 2006, através do Ofício nº 131/06-CPqAM / nº 07/06-CEP/CPqAM, foram encaminhados à CONEP a cópia da *Folha de Rosto* e o *Parecer Consubstanciado* do projeto acima descrito. Entretanto, o encaminhamento a ANVISA não foi efetivado, uma vez que, mesmo após vários contatos telefônicos com aquele órgão na tentativa de se obter informações sobre o fluxo dessa documentação, as informações não foram precisas, e, algumas vezes contraditórias.

Dessa forma, em 21 de junho de 2006 (Ofício nº 136/06 e nº 10/06 - CEP/CPqAM) e em 02 de outubro de 2006 (Ofício nº 219/06 e nº 14/06 - CEP/CPqAM), novas solicitações de orientações sobre os procedimentos a serem realizados pelo CEP (ou pelo pesquisador) para regularizar a situação do projeto junto à ANVISA foram feitas e, até a presente data estamos aguardando o posicionamento do órgão competente.

Ficamos à disposição para qualquer esclarecimento que se fizer necessário.

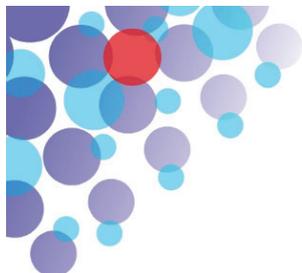
Recife, 04 de outubro de 2006

Ana Maria A. Santos

Dr^a Ana Maria Aguiar dos Santos
Médica
Coordenadora
CEP/CPqAM/FIOCRUZ

ANEXO D

Bula do Teste T-SPOT.TB (português)



Uma ajuda no diagnóstico da infecção por tuberculose

Formato de placa de tiras de 8 poços (TB.300)

FOLHETO INFORMATIVO

Para utilização em diagnóstico *in vitro*

T-SPOT.TB 8

Formato de placa de tiras de 8 poços (TB.300)

	Página
Índice	
Utilização prevista	2
Introdução	2
Princípios do procedimento	2
Limitações	3
Advertências e precauções de segurança	4
Materiais fornecidos	4
Conservação	4
Estabilidade	4
Equipamento e materiais necessários mas não fornecidos	4
Preparação do reagente	5
Procedimento	5
Colheita e preparação da amostra	5
Contagem das células e diluição	6
Preparação da placa e incubação	7
Desenvolvimento e contagem de manchas	8
Controlo de qualidade	8
Interpretação dos resultados e critérios de análise	9
Características de desempenho da análise	9
Bibliografia	10
Glossário de símbolos	10

Utilização prevista

T-SPOT®.TB é um teste de diagnóstico *in vitro* para a detecção de células T efectoras que respondem à estimulação por antígenos do *Mycobacterium tuberculosis* e destina-se a ser utilizado como ajuda no diagnóstico da infecção por tuberculose. T-SPOT.TB é um método ELISPOT simplificado que enumera células T efectoras individuais activadas específicas da TB.

Introdução

A resposta imunitária à infecção com *M. tuberculosis* é predominantemente uma resposta imunitária mediada por células (IMC). Como parte desta resposta, as células T são sensibilizadas para os antígenos do *M. tuberculosis*. As células T efectoras activadas, tanto CD4 como CD8, especificamente separadas do sangue podem ser enumeradas pela sua capacidade de serem estimuladas *in vitro* por estes antígenos^{1,2}. A utilização de antígenos seleccionados do complexo *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) melhora a especificidade reduzindo a reactividade cruzada à vacina da BCG e a muitas micobactérias ambientais^{3,4}. Para otimizar a sensibilidade do teste utilizam-se dois painéis separados de antígenos, que simulam as bem caracterizadas proteínas ESAT-6 e CFP10.

T-SPOT.TB é uma variante simplificada da técnica de análise ELISPOT ("enzyme-linked immunospot"). As análises ELISPOT são excepcionalmente sensíveis uma vez que citocina-alvo é directamente captada em volta da célula secretora, antes de ser diluída no sobrenadante, captada pelos receptores de células adjacentes ou degradada. Isto torna as análises ELISPOT muito mais sensíveis do que as análises ELISA convencionais⁵. T-SPOT.TB foi concebido para a detecção de células T efectoras que respondem à estimulação por antígenos específicos do *M. tuberculosis*^{3,4,6-8}. T-SPOT.TB enumera células T individuais activadas específicas da TB. A análise é indicada para utilização em todos os doentes em risco de infecção latente por tuberculose (LTB) ou com suspeita de terem contraído a tuberculose^{10,11}, independentemente da idade, sexo, grupo étnico, terapia ou estado imunitário.

Princípios do procedimento

Células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) são separadas de uma amostra de sangue total e lavadas para remoção de quaisquer fontes de sinais interferentes de fundo. As PBMCs são então contadas para assegurar que um número estandardizado de células é adicionado à análise para detecção. Isto assegura que mesmo no caso de pessoas com baixas titulações de células T devido ao enfraquecimento do seu sistema imunitário (os imunocomprometidos e os imunossuprimidos), o número de células adicionadas aos poços de microtitulação é adequado. As fases de lavagem e de contagem assim como a técnica ELISPOT permitem um desempenho superior na detecção da tuberculose e da infecção latente por tuberculose.

Para cada amostra são necessários quatro poços (ver Figura 1):-

1. Um Controlo Nulo para identificar a activação de células não específicas.
2. Antígenos específicos da TB, Painel A (ESAT-6).
3. Antígenos específicos da TB, Painel B (CFP10).
4. Um Controlo Positivo contendo fitohemaglutinina (PHA, um conhecido activador policonal⁹) como teste da funcionalidade das PBMCs.

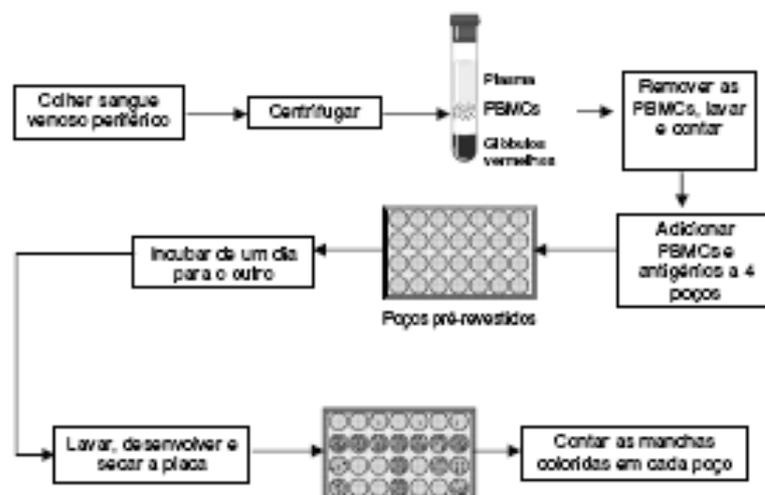


Figura 1: Diagrama ilustrando os principais passos do T-SPOT.TB.

As PBMCs são incubadas com os antígenos para permitir a estimulação de quaisquer células T sensibilizadas presentes. A citocina segregada é captada pelos anticorpos específicos na superfície da membrana, que forma a base do poço, e as células e outros materiais indesejados são removidos por meio de lavagem. Um segundo anticorpo, conjugado a fosfatase alcalina e dirigido para um epítipo diferente na molécula da citocina, é adicionado e liga-se à citocina captada na superfície da membrana. Qualquer conjugado não ligado é removido por meio de lavagem. A cada poço é adicionado um substrato solúvel; este é dividido pela enzima ligada para formar uma mancha de precipitado insolúvel no local da reação. Cada mancha representa a zona de assentamento de uma célula T individual que segrega citocina e a avaliação do número de manchas obtidas fornece uma medida da abundância de células T efectoras sensíveis ao *M. tuberculosis* no sangue periférico.

Limitações

- Apenas para diagnóstico *in vitro*.
- Apenas para uso profissional.
- Conservar o kit não aberto a 2-8°C. O kit não deve ser utilizado depois do prazo de validade indicado na respectiva etiqueta.
- Conservar os componentes do kit aberto a 2-8°C. Os componentes devem ser utilizados no prazo de 8 semanas após a abertura, não devendo esse período ultrapassar o prazo de validade impresso na etiqueta do kit.
- Não misturar componentes provenientes de lotes de kits diferentes.
- Ler atentamente as instruções da análise antes de utilizar.
- Utilizar uma técnica asséptica para evitar a contaminação dos reagentes, dos poços de análise, das suspensões de células e dos meios de cultura de células.
- A variação das técnicas de pipetagem e de lavagem indicadas, dos tempos de incubação e/ou das temperaturas pode influenciar os resultados reais obtidos e deverá ser evitada.
- O sangue deve ser colhido e passado para a análise no prazo de 8 horas.
- Conservar e transportar as amostras de sangue para o laboratório à temperatura ambiente (18-25°C). Não refrigerar nem congelar amostras de sangue total.
- T-SPOT.TB deve ser utilizado e interpretado apenas no contexto do quadro clínico geral.
- Um resultado de teste negativo não exclui a possibilidade de exposição ao *M. tuberculosis* ou de infecção com o mesmo.
- Os antígenos ESAT-6 e CFP10 estão ausentes das estirpes de BCG e da maioria das micobactérias ambientais, com exceção de *M. kansasii*, *M. szuigi*, *M. marinum*^{3,4} e *M. goodii*.

Advertências e precauções de segurança

Devem ser tomadas precauções ao lidar com material de origem humana. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas.

O manuseamento de amostras de sangue e de componentes de análises, a sua utilização, conservação e eliminação devem estar de acordo com os procedimentos definidos nas directrizes ou regulamentos nacionais apropriados em matéria de segurança contra riscos biológicos.

Devem ser tomadas precauções ao trabalhar com produtos químicos. Todos os produtos químicos devem ser considerados como potencialmente perigosos.

Materiais fornecidos

T-SPOT.TB *8* contém:

1. 1 placa de microtitulação: 96 poços, fornecidos como 12x 8 tiras de poços num suporte, revestidos com um anticorpo monoclonal de ratinho à citocina interferão gama (IFN- γ).
2. 2 frascos (0,8 ml cada) de Painel A: contém antígenos ESAT-6, albumina sérica bovina e agentes antimicrobianos.
3. 2 frascos (0,8 ml cada) de Painel B: contém antígenos CFP10, albumina sérica bovina e agentes antimicrobianos.
4. 2 frascos (0,8 ml cada) de Controlo Positivo: contém fitohemaglutinina (PHA), para utilização como controlo de funcionalidade das células, albumina sérica bovina e agentes antimicrobianos.
5. 1 frasco (50 μ l) 200x de Reagente do Conjugado concentrado: anticorpo monoclonal do ratinho contra a citocina IFN- γ conjugada a fosfatase alcalina.
6. 1 frasco (25 ml) de Solução de Substrato: solução BCIP/NBT™ pronta para utilizar.
7. Instruções de Utilização, que se encontram no CD juntamente com a Folha dos Dados de Segurança do Material (MSDS), o Manual Técnico, o Guia do Procedimento Visual e o T-SPOT.Reporter.

Conservação

Conservar todos os componentes do kit a 2-8 °C.

Evitar a exposição prolongada da Solução de Substrato à luz.

Estabilidade

Os componentes do kit são estáveis até ao fim do prazo de validade impresso na embalagem do kit, quando conservados e manuseados nas condições recomendadas.

Equipamento e materiais necessários mas não fornecidos

1. Suporte de placas de tiras de 8 poços (disponível na Oxford Immunotec).
2. Horta microbiológica da classe II (recomendado).
3. Tubos de colheita de sangue, como o Vacutainer® CPT™ ou tubos heparinizados.
4. Ficoll ou materiais alternativos de separação das PBMCs.
5. Centrifugadora para a preparação de PBMCs (com capacidade para, pelo menos, 1800xg e para manter as amostras à temperatura ambiente (18-25 °C)).
6. Equipamento e reagentes para permitir a contagem de PBMCs; quer manualmente utilizando Trypan Blue e um hemocítmetro num microscópio quer automaticamente utilizando um analisador hematológico adequado.
7. Um incubador humidificado com capacidade para 37 \pm 1 °C com um fornecimento de CO₂ a 5%.
8. Uma unidade de lavagem de placas de microtitulação ou equipamento para lavagem manual das placas.
9. Pipetas e pontas de pipetas estéreis.
10. Solução PBS estéril: como GIBCO™ 1x D-PBS (Invitrogen; número de catálogo 14040-091).
11. Água destilada ou desionizada.

12. Um meio de leitura das placas como, por exemplo, um microscópio, uma lupa ou um leitor de placas.
13. Meio de cultura de células estéril como GIBCO AIM-V™ (Invitrogen; número de catálogo 31035-025); a utilização deste meio isento de soro para o passo de incubação é vivamente recomendada. RPMI 1640 (Invitrogen; número de catálogo 21875-034) poderá ser utilizado apenas nos passos iniciais de preparação da amostra. Recomenda-se que os meios de cultura de células sejam conservados em alíquotas apropriadas e que o material excedente seja eliminado após a utilização. Os meios de cultura de células deverão ser previamente aquecidos até 37 °C antes da utilização do T-SPOT.TB.

Preparação do reagente

1. Placa de microfilitação: A placa de microfilitação T-SPOT.TB 9 é fornecida pronta para ser utilizada. Retirar do local de armazenamento o número necessário de tiras de 9 poços e deixar equilibrar à temperatura ambiente. Voltar a selar as tiras restantes na embalagem de folha exterior com a bolsa de dessecante que aí se encontra.
2. Os frascos de antígenos ESAT-6 do *M. tuberculosis* (Painel A) são fornecidos prontos para serem utilizados.
3. Os frascos de antígenos CFP10 do *M. tuberculosis* (Painel B) são fornecidos prontos para serem utilizados.
4. Os frascos de Controlo Positivo são fornecidos prontos para serem utilizados.
5. Preparar uma diluição de 1:200 de solução de trabalho de Reagente do Conjugado. Calcular o volume necessário de solução de trabalho de Reagente do Conjugado e preparar imediatamente antes de utilizar.
6. A Solução de Substrato é fornecida pronta para ser utilizada. Retirar do local de armazenamento e deixar equilibrar à temperatura ambiente.

Procedimento

Esta análise deve ser efectuada utilizando os princípios das boas práticas laboratoriais e cumprindo rigorosamente estas instruções de Utilização.

A Oxford Immunotec Ltd preparou uma série de documentos técnicos que descrevem algumas opções avaliadas nos nossos laboratórios para a colheita e preparação de amostras, a selecção de meios de cultura de células e os métodos de contagem de manchas. Igualmente disponíveis, para além dos Pontos Principais e das Notas incluídos neste Folheto Informativo, encontram-se um Guia do Procedimento Visual e um Manual Técnico. Todos estes artigos técnicos estão disponíveis telefonando para +44 (0) 1235 442780 ou fazendo "download" de www.oxfordimmunotec.com.

Colheita e preparação das amostras

Os utilizadores individuais devem validar os seus procedimentos de colheita de PBMCs, enumeração de PBMCs e escolha de meios adequados para suportar a funcionalidade das células T durante a fase de incubação primária da análise. Geralmente, para um doente imunocompetente, podem obter-se PBMCs suficientes para fazer a análise a partir de amostras de sangue venoso de acordo com as seguintes orientações:

- Adultos e crianças com idade igual ou superior a 10 anos: um tubo de 8 ml ou dois tubos de 4 ml
- Crianças dos 2 aos 9 anos: um tubo de 4 ml
- Crianças até aos 2 anos: um tubo pediátrico de 2 ml

As amostras de sangue devem ser conservadas à temperatura ambiente e analisadas no dia da colheita do sangue. Os meios de cultura de células deverão ser previamente aquecidos até 37 °C antes da utilização do T-SPOT.TB.

Procedimento	Notas
1. Colher uma amostra de sangue de acordo com as instruções que acompanham o dispositivo de colheita. Conservar o sangue colhido à temperatura ambiente (18-25 °C). Não refrigerar ou congelar.	1. As amostras de sangue podem ser colhidas numa variedade de tubos. Nos nossos laboratórios, utilizamos com sucesso citrato de sódio CPT Vacutainer, heparina de sódio CPT e tubos standard de heparina de lítio. Os tubos EDTA não são recomendados.
2. Para os tubos de colheita de sangue CPT, seguir as instruções do fabricante para a separação das PBMCs. Para métodos alternativos de colheita de sangue, preparar as PBMCs por meio de centrifugação através de Ficoll-Paque™ Plus recorrendo a procedimentos publicados.	2. Centrifugar os tubos CPT de 8 ml a 1800xg durante 29 min ou os tubos CPT de 4 ml a 1800xg durante 30 min à temperatura ambiente (18-25 °C). Em alternativa, diluir o sangue com um volume igual de meio RPMI 1640. Colocar cuidadosamente o sangue diluído (2-3 volumes) sobre Ficoll-Paque Plus (1 volume) e centrifugar a 1000xg durante 22 min à temperatura ambiente (18-25 °C).
3. Colher a faixa branca e lúva de PBMCs utilizando uma pipeta e transferir para um tubo de centrifugação cónico de 15 ml. Perfazer o volume até 10 ml com meio de cultura de células.	3. Durante este processo, podem ser utilizados vários meios para a lavagem das células. Nos nossos laboratórios, tanto o AIM-V como o RPMI 1640 foram utilizados com sucesso e são recomendados.
4. Centrifugar a 600xg durante 7 min. Retirar o sobrenadante e ressuspender o pellet em 1 ml de meio.	4. Ver 3. acima.
5. Perfazer o volume até 10 ml com meio fresco e centrifugar a 350xg durante 7 min.	5. Ver 3. acima.
6. Retirar o sobrenadante e ressuspender o concentrado em 0,7 ml de meio.	6. Nesta fase, o meio de cultura seleccionado para a incubação de um dia para o outro deverá ser utilizado para ressuspender o pellet. Nos nossos laboratórios, o meio isento de soro AIM-V foi utilizado com sucesso e é vivamente recomendado.

Contagem das células e diluição

T-SPOT.TB requer $2,5 \times 10^6$ PBMCs viáveis por poço. Para cada amostra do doente são necessários, no total, quatro poços. É necessário adicionar a cada poço o número correcto de células. Se tal não for feito, poderá obter-se uma interpretação incorrecta do resultado.

Procedimento	Notas
1. Fazer uma contagem de células viáveis.	1. As células podem ser contadas por vários métodos, incluindo a contagem manual utilizando Trypan Blue e um hemocitómetro ou contagem automatizada utilizando um instrumento apropriado.
2. Resumidamente, para a contagem manual com um hemocitómetro Neubauer, adicionar 10 µl da suspensão de células final a 40 µl de solução Trypan Blue a 0,4%(p/v). Colocar uma alíquota apropriada no hemocitómetro e contar as células na grelha. Para outros tipos de hemocitómetro e para os dispositivos automatizados, seguir as instruções dos fabricantes.	2. Devem ser tomadas precauções para assegurar que a suspensão de células está bem misturada imediatamente antes da remoção das alíquotas para diluição ou para contagem. As células podem assentar no fundo do tubo levando a uma interpretação errada do verdadeiro número de células.

3. Calcular a concentração de células viáveis presentes na suspensão de células de reserva.	3. Assegurar que o cálculo está correcto para o sistema de contagem de células utilizado uma vez que a utilização de um número insuficiente ou excessivo de células pode conduzir a uma interpretação errada do resultado.
4. Preparar 500 µl da suspensão de células final a uma concentração de $2,5 \times 10^6$ células / 100 µl.	4. Assegurar que as células estão bem misturadas antes da remoção de uma alíquota para diluição.

Preparação das placas e incubação

T-SPOT.TB requer a utilização de quatro poços para cada amostra do doente. Com cada amostra separada deverá ser processado um Controlo Nulo e um Controlo Positivo de funcionalidade das células. Recomenda-se que as amostras sejam dispostas verticalmente sobre a placa como ilustrado a seguir.

- Controlo Nulo
- Painel A
- Painel B
- Controlo Positivo

Procedimento	Notas
1. Retirar as tiras de 9 poços pré-revestidas da embalagem, prender num suporte de placas e deixar equilibrar à temperatura ambiente.	1. Retirar apenas o número pretendido de tiras, voltar a colocar as restantes no local de armazenamento. Prender as tiras a utilizar num suporte de placas vazio com uma cobertura inferior e uma tampa. Os suportes, coberturas e tampas devem ser guardados e reutilizados.
2. Cada amostra do doente requer a utilização de 4 poços individuais; (i) Adicionar 50 µl de meio de cultura de células a cada poço de Controlo Nulo. (ii) Adicionar 50 µl de solução do Painel A a cada poço pretendido. (iii) Adicionar 50 µl de solução do Painel B a cada poço pretendido. (iv) Adicionar 50 µl de solução de Controlo Positivo a cada poço de controlo da funcionalidade das células.	2. Não deixar a ponta da pipeta tocar na membrana. Os entalhes na membrana feitos pelas pontas das pipetas podem criar artefactos nos poços. Pode ser necessário bater suavemente na placa para assegurar que as soluções cobrem a membrana na base de cada poço. Deverá ser evitada uma agitação vigorosa para minimizar a contaminação cruzada dos antígenos entre os poços.
3. A cada um dos 4 poços a utilizar para uma amostra do doente, adicionar 100 µl da suspensão de células final do doente (contendo 250.000 células viáveis).	3. Pipetar a suspensão de células suavemente para cima e para baixo a fim de assegurar uma boa mistura antes da remoção de cada alíquota de 100 µl. Recomenda-se a utilização de uma ponta nova para cada adição de células de cada doente a fim de evitar a contaminação cruzada entre os 4 poços.
4. Incubar a placa num incubador humidificado a 37 °C com CO ₂ a 5% durante 18-20 horas.	4. Evitar perturbar a placa depois de colocada no incubador. Não empilhar as placas uma vez que tal pode provocar uma distribuição de temperatura e uma ventilação irregulares. A falta de cumprimento do tempo de incubação recomendado pode conduzir a uma interpretação incorrecta do resultado.

Desenvolvimento e contagem de manchas

Durante as fases de lavagem e de desenvolvimento da placa, não toque na membrana com as pontas das pipetas ou com as pontas da unidade de lavagem automática dos poços. Os entalhes na membrana feitos pelas pontas das pipetas ou da unidade de lavagem dos poços podem criar artefactos nos poços os quais podem confundir a contagem de manchas.

Procedimento	Notas
1. Retirar a placa do incubador e deitar fora o meio de cultura das células.	1. Nesta altura, retirar a Solução de Substrato do kit e deixar equilibrar à temperatura ambiente.
2. Adicionar 200 µl de solução PBS a cada poço.	
3. Deitar fora a solução PBS. Repetir a lavagem dos poços mais 3 vezes com solução PBS fresca para cada lavagem.	3. Deitar fora toda a solução PBS do passo de lavagem final invertendo suavemente a placa sobre papel absorvente antes de prosseguir.
4. Diluir o Reagente do Conjugado concentrado 200 vezes em PBS para criar a solução com a concentração de trabalho.	4. Não utilizar solução PBS contendo Tween™ ou outros detergentes, uma vez que isso causa elevadas contagens de fundo. Assegurar que é apenas preparado um pequeno excedente (para ter em conta o desperdício) de solução com a concentração de trabalho. Assim, para uma tira de 8 poços (requerendo cada poço 50 µl), perfazer 500 µl de solução com a concentração de trabalho adicionando 2,5 µl de Reagente do Conjugado concentrado a 497,5 µl de PBS.
5. Adicionar 50 µl de solução com a concentração de trabalho de Reagente do Conjugado a cada poço e incubar a 2-8°C durante 1 hora.	5. A falta de cumprimento do tempo de incubação recomendado pode conduzir a uma interpretação incorrecta do resultado.
6. Deitar fora o conjugado e fazer quatro lavagens com PBS conforme descrito nos passos 2 e 3, acima.	
7. Adicionar 50 µl de Solução do Substrato a cada poço e incubar à temperatura ambiente durante 7 min.	7. A falta de cumprimento do tempo de incubação recomendado pode conduzir a uma interpretação incorrecta do resultado.
8. Lavar cuidadosamente a placa com água destilada ou desionizada para parar a reacção de detecção.	
9. Deixar a placa secar numa zona bem ventilada ou colocando-a num forno até 37 °C.	9. As manchas tornam-se mais visíveis à medida que a placa seca. Permitir um tempo de secagem de 4 horas a 37 °C ou de um dia para o outro à temperatura ambiente.
10. Contar e registar o número de manchas azuis escuras distintas na membrana de cada poço. Aplicar interpretação dos Resultados e Critérios de Análise (ver abaixo) para determinar se uma amostra de um doente é "Reactiva" ou "Não reactiva" aos antígenos da TB.	10. As manchas podem ser visualizadas por vários métodos, incluindo a utilização manual de uma lupa, ou através de um microscópio adequado, ou utilizando um leitor de placas dedicado ELISPOT.

Controlo de qualidade

Num resultado típico seria de prever poucas ou nenhuma manchas no Controlo Nulo e mais de 20 manchas no Controlo Positivo.

Uma contagem do Controlo Nulo superior a 10 manchas deve ser considerada "Indeterminado". Os resultados relativos a esta amostra podem ser difíceis de interpretar. Consultar o Manual Técnico do T-SPOT.TB quanto às causas possíveis (fazer "download" de www.oxfordimmunolec.com). Poderá ser necessário colher outra amostra e fazer uma nova análise do indivíduo.

Geralmente, a contagem de manchas do Controlo Positivo da funcionalidade das células deveria ser ≥ 20 ou revelar saturação (demasiadas manchas para contar). Uma pequena percentagem de doentes pode ter células T que apresentam apenas uma resposta limitada à PHA^{13,14}. Nos casos em que a contagem de manchas do Controlo Positivo é < 20 manchas, deverá ser considerada como "indeterminado", a não ser que o Painel A ou o Painel B sejam "Reactivos" conforme descrito em Interpretação dos Resultados e Critérios de Análise (ver abaixo), e nesse caso o resultado é válido.

Devido a potenciais variações biológicas e sistemáticas, no caso em que o Controlo Nulo tem 0 – 5 manchas e (a contagem de manchas do Painel A ou do Painel B) – (a contagem de manchas do Controlo Nulo) = 5 – 7, tal resultado poderá ser considerado como uma "zona cinzenta" e deverá ser considerado em conjunto com toda a informação clínica disponível. Poderá ser necessário colher outra amostra e fazer uma nova análise do indivíduo.

Enquanto os antígenos ESAT-6 e CFP10 estão ausentes das estirpes de BCG de *M. bovis* e da maioria das micobactérias ambientais, é possível que um resultado "Reactivo" do T-SPOT.TB se deva a infecção por *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum* ou *M. goodii*. No caso de suspeita destas infecções serão necessários testes alternativos.

Interpretação dos resultados e critérios de análise

Consultar a secção de Controlo de Qualidade antes de aplicar os critérios seguintes.

O resultado do teste é "Reactivo" se um dos painéis ou ambos, Painel A e Painel B, responderem, de acordo com os seguintes critérios:

No caso em que o Controlo Nulo tem 0 – 5 manchas e (a contagem de manchas do Painel A ou do Painel B) – (a contagem de manchas do Controlo Nulo) ≥ 6 .

No caso em que o Controlo Nulo tem 6 – 10 manchas e (a contagem de manchas do Painel A ou do Painel B) $\geq 2x$ (a contagem de manchas do Controlo Nulo).

O resultado do teste é "Não reactivo" se os critérios anteriores não forem satisfeitos e o Controlo Positivo for válido.

No caso em que o Controlo Positivo é "indeterminado" e tanto o Painel A como o Painel B são "Não reactivos", o teste deverá ser considerado como "indeterminado" e deverá ser repetido.

Um resultado "Reactivo" indica que a amostra contém células T efectoras reactivas ao *M. tuberculosis*.

Um resultado "Não reactivo" indica que a amostra provavelmente não contém células T efectoras reactivas ao *M. tuberculosis*.

Características de desempenho da análise

A especificidade foi avaliada analisando 93 amostras de doadores considerados com base no historial médico e na informação pessoal com baixo risco de infecção com *M. tuberculosis*. A especificidade do T-SPOT.TB foi calculada como 100% (93/93) (limites de confiança de 95% 95,8% - 100%).

A sensibilidade foi avaliada analisando 87 amostras de casos confirmados por cultura de infecção por *M. tuberculosis*, incluindo grupos imunocomprometidos. A sensibilidade do T-SPOT.TB foi calculada como 99,8% (86/87) (limites de confiança de 95% 90,8% - 99,9%).

A reprodutibilidade foi avaliada, como um "surrogate marker" (marcador substituto) da variação intra-análises, por meio de análise de amostras de sangue duplicadas processadas na mesma placa. Um total de 145 amostras de sangue de 140 doadores individuais foram analisadas em

duplicado (dois poços para cada um dos painéis, Painel A e Painel B) utilizando o T-SPOT.TB. Em 142/145 (97,9%) análises duplicadas, foi observada concordância clínica. Duas análises duplicadas produziram resultados discordantes *borderline* e apenas 1/145 amostras produziu resultados discrepantes.

A reprodutibilidade foi avaliada, como um "surrogate marker" (marcador substituto) da variação inter-análises, por meio de análise de amostras de sangue duplicadas processadas em duas placas diferentes. Um total de 208 amostras de sangue de doadores individuais foram analisadas em duplicado (dois poços para cada um dos painéis, Painel A e Painel B; um poço em cada uma das duas placas) utilizando o T-SPOT.TB. Em 206/208 (99,0%) análises duplicadas, foi observada concordância clínica.

Bibliografia

1. Janeway *et al* (1996) *Immunobiology* 2nd Ed.
2. Staines *et al* (1999) *Introducing Immunology* 2nd Ed.
3. Chapman *et al* (2002) *AIDS*, 16 (17): 2285-2293.
4. Ewer *et al* (2003) *Lancet*, 361: 1168-1173.
5. See www.elispot-analyzers.de/english/science-elispot-assays.html
6. Pathan *et al* (2001) *J. Immunol.*, 167: 5217-5225.
7. Lalvani *et al* (2001) *Lancet*, 357: 2017-2021.
8. Lalvani *et al* (2001) *Am. J. Resp. Crit. Care Med.*, 163: 824-829.
9. Lalvani *et al* (2001) *J. Infect. Dis.*, 183: 469-477.
10. Meier *et al* (2005) *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 24: 529-536.
11. Zellweger *et al* (2005) *Int. J. Tuberculosis and Lung Dis.*, 9(11): 1242-1247.
12. NCCLS Approved Guideline. *Performance of single Cell Immune Response Assays, I/LA.26-A*
13. Koller *et al* (2003) *Clin. Exp. Immunol.*, 132(2): 225-231.
14. Apollonj *et al* (1975) *Immunol. Commun.*, 4(5): 453-463.

Glossário de símbolos

- Ⓐ Prazo de validade (ano-mês-dia)
- ☒ Número de lote
- ☒ Número de catálogo
- ⚠ Atenção, ver as instruções de utilização
- Ⓜ Fabricante
- ▽ Suficiente para "n" testes
- ☒ Produto para diagnóstico *in vitro*
- Ⓝ Limite de temperatura/Conservar em
- ☒ Consultar as instruções de utilização

T-SPOT e o logotipo da Oxford Immunotec são marcas comerciais da Oxford Immunotec Limited
 AIM-V, RPMI e GIBCO são marcas comerciais da Invitrogen
 CPT e Vacutainer são marcas comerciais da Becton Dickinson
 Ficoll-Paque é uma marca comercial da GE Health Technologies
 Tween é uma marca comercial da ICI Americas

T-SPOT.TB está protegido pelas seguintes patentes e patentes pendentes:
 EP 0941478, US 09/308,725, AU 728357, CA 2272881, JP 524410/98, EP 1152012, AU 785013, EP1144447, US
 09/830,839, JP 2000-579635, US 09/916,201, WO 02/054072, WO 07/09428, US 8290669, US 6338852, US
 09/724,685, AU 727802, BR 9610282, CA 2230885, CN 1200147, CZ 9800628, HU 9900902, IL 123506, NO 9300683,
 PL 325373, TR 9800411, ZA 9807394, WO 07/09429, AU 9871587, JP 11514217, BR 9610288, CA 2230927, CN
 1200148, WO 9501441, US 5955077, EP 708571, AU 682879, CA 2165949, NZ267984

T-SPOT.TB incorpora tecnologia patenteada sob licença do Statens Serum Institut, Copenhagen, Dinamarca e da Isis
 Innovation Limited, Oxford, Reino Unido.

T-SPOT.TB é vendido sob licença do Public Health Research Institute e pode ser utilizado ao abrigo de direitos de patentes
 do PHRI apenas para diagnóstico humano *in vitro*.

© Oxford Immunotec Limited, 2007. Todos os direitos reservados.

Fabricante
 Oxford Immunotec Ltd
 94C Milton Park, Abingdon
 Oxfordshire, OX14 4RY, Reino Unido
www.oxfordimmunotec.com



Oxford Immunotec Limited, 94C Milton Park,
 Abingdon, Oxon OX14 4RY, UK
 Tel: +44 (0)1235 833380 Fax: +44 (0)1235 442154
 E-mail: info@oxfordimmunotec.com

www.oxfordimmunotec.com



Publicação 1 – Artigo de Revisão

Abordagem diagnóstica da tuberculose latente na Artrite
Reumatóide

Revista Brasileira de Reumatologia, v. 47, n. 6, p. 424-430



Abordagem Diagnóstica da Tuberculose Latente na Artrite Reumatóide

Latent Tuberculosis Diagnosis in Rheumatoid Arthritis

Cláudia Diniz Lopes Marques⁽¹⁾, Angela Luzia Branco Pinto Duarte⁽²⁾, Fernando de Souza Cavalcanti⁽³⁾, Eduardo Maia Freese de Carvalho⁽⁴⁾, Yara de Miranda Gomes⁽⁴⁾

RESUMO

Apesar de terem revolucionado a prática reumatológica, o uso dos inibidores do fator de necrose tumoral (anti-TNFs) no tratamento da artrite reumatóide (AR) fez surgir um problema considerado solucionado em muitos países desenvolvidos: o risco elevado de reativação de infecção tuberculosa latente (ITBL). Desse modo, a identificação de casos de ITBL passou a ser obrigatória antes do início da terapêutica com anti-TNF. O teste cutâneo da tuberculina (PPD) não é um teste de *screening* ideal nesse grupo de pacientes em virtude de sua baixa especificidade, sua reação cruzada com antígenos vacinais e de outras micobactérias ambientais e, principalmente, por conta da incapacidade de o paciente com AR produzir uma resposta adequada ocasionada por uma anormalidade na responsividade das células T, característica da doença. Ensaios com base na detecção da produção de IFN γ *in vitro* por células mononucleares periféricas estimuladas por antígenos específicos (ESAT-6 e CFP-10), que não são encontrados na vacina BCG nem em outras micobactérias ambientais, parecem ser mais acurados que o PPD na detecção de ITBL em virtude de maior especificidade, melhor correlação com medidas indiretas de exposição ao *Mycobacterium tuberculosis* e menor reação cruzada com a vacinação por BCG e infecções por outras micobactérias.

Palavras-chave: artrite reumatóide, tuberculose, anti-TNF.

INTRODUÇÃO

O surgimento, na década de 1990, dos inibidores do fator de necrose tumoral (anti-TNFs) para tratamento da artrite reumatóide (AR) revolucionou a prática reumatológica por permitir um controle da doença mais adequado nos casos refratários ao tratamento com os DMARDs (*disease-modifying antirheumatic drugs*) convencionais, e conseqüentemente, pela grande melhora da qualidade de

ABSTRACT

Despite representing a major advance in rheumatology practice, the use of tumor necrosis factor blockade (anti-TNFs) in the treatment of rheumatoid arthritis (RA) has given rise to a problem that was considered solved in many developed countries, i.e. the heightened risk of reactivation of latent tuberculosis infection (LTBI). The identification of cases of LTBI has thus been made obligatory prior to starting any anti-TNF treatment. The cutaneous tuberculin test (PPD) is not the ideal screening test for this group of patients. Low specificity, cross-reactivity with vaccine antigens and other exogenous microorganisms coupled to a defect in the cell-mediated component of the immunological response account for the inadequacy of PPD as a screening tool in this subset of patients. Assays using the detection of *in vitro* IFN γ production by peripheral blood mononuclear cells stimulated by specific antigens (ESAT-6 and CFP-10), which are found neither in the BCG vaccine nor in other micro-organisms in the environment should perform better than the PPD, owing to a presumed higher specificity as well as to correlation with indirect measures of exposure to *Mycobacterium tuberculosis* besides decreased cross-reactivity determined by prior BCG vaccination and/or other infections.

Keywords: rheumatoid arthritis, tuberculosis, anti-TNF.

vida desses pacientes. No entanto, o uso dos anti-TNFs fez surgir um problema, considerado resolvido em muitos países desenvolvidos: o risco elevado de reativação de infecção tuberculosa latente (ITBL)⁽¹⁾. A presença do TNF é crítica na prevenção do estabelecimento do *Mycobacterium tuberculosis* e na preservação da tuberculose em sua forma latente, mantendo a integridade do granuloma⁽²⁾. Desse modo, o bloqueio dessa citocina com a terapêutica anti-

Recebido em 27/03/07. Aprovado, após revisão, em 19/09/07. Declaramos a inexistência de conflitos de interesse.

1. Doutoranda em Saúde Pública do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) e mestra em Medicina Interna.

2. Professora titular de Reumatologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

3. Professor adjunto de Reumatologia da UFPE.

4. Pesquisador(a) do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fiocruz.

Endereço para correspondência: Cláudia Diniz Lopes Marques, Hospital das Clínicas (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, s/n, sala 133, Recife, PE, CEP 50670-420, e-mail: claudiadlmarques@terra.com.br

TNF favorece o aparecimento de infecção ativa nos casos em que ela permanecia latente⁽³⁾.

Uma revisão recente sobre a incidência de infecções granulomatosas após tratamento com as drogas biológicas, relatadas à U.S. Food and Drug Administration (FDA), de setembro de 1998 a setembro de 2002, evidenciou uma taxa que variou de 74 a 197 por 100.000 pacientes tratados, dependendo da droga utilizada⁽⁴⁾. Existem evidências substanciais que o risco de reativação de tuberculose (TB) aumenta de cinco a dez vezes após o uso dos anti-TNFs quando comparados com outros tratamentos na mesma população^(4,5,6).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que mais de um terço da população do planeta está infectada com o *M. tuberculosis*. Esse enorme reservatório de indivíduos infectados tem sido a maior barreira na tentativa de um controle global da TB, além do fato de que, essas formas latentes de infecção podem, durante o tratamento com anti-TNF, transformar-se em infecção ativa^(7,8).

Em 2000, ocorreram 8,3 milhões de novos casos e 1,8 milhão de óbitos em virtude de TB, tornando-a a segunda maior causa de morte em decorrência de um agente infeccioso identificado, só perdendo para a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV)^(9,10).

Um diagnóstico rápido e acurado para TB ativa é o elemento mais importante para o controle da doença. O padrão-ouro no diagnóstico ainda é o exame clínico, combinado com o exame microscópico direto do escarro e a cultura da bactéria. A cultura do *M. tuberculosis* pode demorar cerca de oito semanas para demonstrar crescimento, e em 10% a 20% dos casos, o bacilo não cresce adequadamente. Assim, o diagnóstico deve ser feito com base em achados clínicos e alterações radiológicas, o que leva a um atraso na confirmação de casos de suspeita de TB. Além disso, não é possível a detecção precoce de uma infecção subclínica utilizando essa forma de abordagem, uma vez que para o diagnóstico é necessário o aparecimento de sintomas clínicos⁽¹¹⁾.

Quanto à TB latente, é possível a realização de testes para seu diagnóstico precoce antes do aparecimento de sintomas. O tratamento de formas latentes de infecção tuberculosa (quimioprofilaxia) é, portanto, parte fundamental da estratégia de controle da doença. Esse deve ser realizado especialmente quando diante de dois grupos de pacientes: recentemente infectados (contato com pessoas que apresentam infecção tuberculosa) e pessoas que apresentem risco de desenvolver a doença após contato com o *M. tuberculosis* em virtude de determinadas condições clí-

nicas, incluindo doenças auto-imunes e infecção pelo vírus HIV⁽¹²⁾. No Brasil, de acordo com o II Consenso Brasileiro de Tuberculose, publicado em 2004⁽¹³⁾, a quimioprofilaxia com isoniazida deve ser realizada nos seguintes grupos de pacientes durante seis meses:

- a. Recém-nascidos co-habitantes de um foco de TB ativa;
- b. Crianças menores de 15 anos, contactante de TB ativa, com PPD ≥ 10 mm nos não-vacinados com bacilo de Calmette-Guérin (BCG) ou com PPD ≥ 15 mm nos vacinados;
- c. Indivíduos com viragem tuberculínica recente (acima de 10 mm, nos últimos 12 meses);
- d. População indígena, contactante de TB ativa, com PPD reator forte, independentemente da idade e do estado vacinal, sem sinais de doença ativa;
- e. Imunodeprimidos por uso de drogas ou por doença imunossupressora;
- f. Contactantes intradomiciliares de caso de TB ativa, sob criteriosa avaliação médica;
- g. Reatores fortes à tuberculina, sem sinais de doença ativa, mas portadores de condições clínicas que favoreçam a infecção: alcoolismo, diabetes melito insulino-dependente, nefropatia crônica, silicose, sarcoidose, linfoma, uso prolongado de corticosteroide em dose de imunossupressão, quimioterapia antineoplásica, radiografia de tórax compatível à TB inativa, sem história de quimioprofilaxia;
- h. Indivíduos infectados pelo vírus HIV, com PPD ≥ 5 mm.

O tratamento das formas latentes reduz a incidência da doença ativa em 75%, diminuindo assim sua morbimortalidade⁽⁸⁾.

O teste cutâneo da tuberculina com preparação padrão de proteína derivada purificada (PPD) utilizado desde 1930 para determinar o risco de infecção pelo *M. tuberculosis* contém uma mistura de antígenos que induz a uma reação de hipersensibilidade tardia. Apesar de suas conhecidas limitações na sensibilidade e na especificidade, continua sendo utilizado como critério *standard* para o diagnóstico de ITBL⁽¹⁴⁾. Na prática, a realização deste como *screening* para TB é um tanto desanimadora em virtude de sua baixa especificidade, uma vez que a vacinação recente com BCG e a exposição a outras micobactérias produzem uma resposta imunológica celular similar àquela induzida pela infecção pelo *M. tuberculosis*⁽¹³⁾.

O tamanho da reação ao PPD é usado para classificar os indivíduos de acordo com a probabilidade de ter ou não a infecção. Dentre suas limitações, podemos citar o fato de que, por ser mensurado em uma escala contínua, não tem o valor inerente de indicar a presença ou a ausência de infecção. Deste modo, foram estabelecidos critérios usando um ponto de corte, acima do qual o PPD é considerado positivo (ou seja, indica a presença de ITBL)^(13,15).

O resultado, registrado em milímetros, classifica-se como:

- 0 mm a 4 mm – não reator: indivíduo não infectado pelo *M. tuberculosis* ou com hipersensibilidade reduzida;
- 5 mm a 9 mm – reator fraco: indivíduo vacinado com BCG ou infectado pelo *M. tuberculosis* ou por outras micobactérias;
- 10 mm ou mais – reator forte: indivíduo infectado pelo *M. tuberculosis*, que pode estar doente ou não, e indivíduos vacinados com BCG nos últimos dois anos.

Algumas circunstâncias podem interferir no resultado da prova tuberculínica, por exemplo: doenças imunossupressoras como sarcoidose, síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), neoplasias e doenças linfoproliferativas; tratamentos com corticosteróides e drogas imunodepressoras; gravidez; crianças abaixo de dois anos e idosos acima de 65 anos. Nos indivíduos infectados pelo vírus HIV, considera-se reator aquele que apresenta endurecimento de 5 mm ou mais e não reator aquele com endurecimento entre 0 e 4 mm. Nos indivíduos vacinados com BCG, sobretudo entre aqueles imunizados há até dois anos, a prova tuberculínica deve ser interpretada com cautela porque, em geral, apresenta reações de tamanho médio podendo alcançar 10 mm ou mais⁽¹³⁾. Além disso, a variabilidade de leitura inter e intra-observador, a necessidade de pessoal treinado para a leitura e do retorno do paciente para a leitura da enduração torna ainda mais complicada sua utilização como teste de triagem⁽¹⁶⁾.

DIAGNÓSTICO DA ITBL ANTES DO INÍCIO DA TERAPIA COM INIBIDORES DE TNF

Decorrente do aumento da incidência e da severidade de infecções tuberculosas após o início do uso dos anti-TNFs no tratamento da AR, a identificação de casos de ITBL passou a ser obrigatória antes do início da terapêutica^(6,17,18). As orientações brasileiras para diagnóstico da ITBL ou

doença ativa orientam que na avaliação antes do início do tratamento com anti-TNF deve ser incluída história clínica completa, com tratamento ou quimioprofilaxia anteriores ou contato intradomiciliar ou institucional com TB, radiografia de tórax e realização do PPD. A radiografia de tórax é considerada suspeita quando apresenta imagem sugestiva de tuberculose ativa ou de complexo primário. O PPD é considerado positivo quando apresenta valor acima de 5 mm. A utilização desse ponto de corte em vez de 10 mm para exames positivos minimiza a interferência da AR e do tratamento imunossupressor sobre a hipersensibilidade⁽¹⁸⁾.

Após a adoção de medidas para identificação dos casos de ITBL e a realização da quimioprofilaxia com isoniazida nos casos identificados – PPD reator (≥ 5 mm), independentemente do raio X de tórax ou PPD não-reator (< 5 mm), porém com passado de tuberculose, quimioprofilaxia prévia ou raio X de tórax compatível com sinais de seqüela de TB –, a incidência de infecção tuberculosa ativa diminuiu significativamente durante o tratamento com anti-TNF^(6,16,18,19,20).

Um grande complicador para o diagnóstico prévio de ITBL nos portadores de AR é a anormalidade da função celular imune⁽²¹⁾ observada nesses doentes. Existe uma diminuição da responsividade de células mononucleares periféricas, o que acarreta prejuízo para hipersensibilidade cutânea tardia e para o reconhecimento de antígenos, como é o caso do PPD^(21,22,23). Não se sabe exatamente o mecanismo para essa alteração, mas já foi demonstrado que esta pode ser ocasionada pela deficiência da produção de IL-2⁽²⁴⁾ ou exposição crônica ao TNF⁽²²⁾. Um trabalho recente demonstrou que o número de células T CD4⁺ está diretamente relacionado com a magnitude da resposta ao PPD⁽²⁵⁾. As células T regulatórias (TReg) (CD4⁺CD25⁺), que tem papel fundamental na prevenção da auto-imunidade, apresentam diminuição em número e função na AR⁽²⁶⁾.

O teste de Mantoux avalia *in vivo* a resposta celular imune contra a proteína purificada derivada do *M. tuberculosis*, resultando uma reação clássica de hipersensibilidade cutânea tardia, dependente da migração de células T CD4⁺ produtoras de INF γ para o local da injeção do antígeno. Pacientes com AR apresentariam uma incapacidade de produção de resposta adequada ao PPD, mesmo em indivíduos infectados pelo *M. tuberculosis*, tornando o teste inapropriado para o reconhecimento das formas latentes nesses pacientes⁽²⁴⁾. Algumas autoridades recomendam inclusive que pacientes com AR e PPD negativo, mas que tenham grande risco clínico ou epidemiológico para infecção tuberculosa, sejam

empiricamente tratados para ITBL antes do início da terapia com uma droga biológica⁽¹⁴⁾.

Em um estudo desenvolvido no Peru⁽²⁷⁾, onde a TB é endêmica, o PPD foi realizado em um grupo de pacientes com AR e num outro, de voluntários imunocompetentes, pareados por sexo e idade. Foi considerado positivo um resultado maior ou igual a 5 mm no grupo AR e maior ou igual a 10 mm no grupo imunocompetente. Um resultado menor do que 5 mm após 72 horas foi considerado negativo, nos dois grupos. Foi identificada uma positividade de 71% do PPD no grupo imunocompetente contra 29% no grupo com AR. Todos os pacientes do grupo AR utilizavam doses menores que 7,5 mg/dia de corticosteroide, o que reconhecidamente não suprime a hipersensibilidade cutânea tardia. Essa discrepância de resultados foi associada à anormalidade da imunidade celular da AR.

Em outro estudo realizado na Turquia, área onde a prevalência de TB é relativamente elevada, foi observada uma baixa positividade do PPD (29,8%) quando comparada com pacientes portadores de espondilite anquilosante (65,9%), artrite gotosa (68,8%) e osteoartrite (63%)⁽²⁸⁾.

Provenzano *et al.*⁽¹⁷⁾ avaliaram 69 pacientes italianos portadores de doença inflamatória articular crônica, que se submetiam ao tratamento com anti-TNF. Durante o *screening* para ITBL foram encontrados 2,9% de pacientes com história prévia de TB tratada, 8,7% de PPD positivo e alterações radiográficas compatíveis com seqüela de TB em 20,3%, demonstrando falha do PPD em identificar todos os pacientes portadores de ITBL, tornando a prática da realização da radiografia de tórax obrigatória.

NOVOS TESTES PARA IDENTIFICAÇÃO DE ITBL

O desenvolvimento de testes alternativos para identificação de ITBL tem sido alvo de inúmeras pesquisas. Um teste para ITBL ideal deveria ter alta sensibilidade em todas as populações de risco, bem como alta especificidade, independentemente da vacinação anterior com BCG ou infecção por outras micobactérias, deveria ser seguro, estável ao longo do tempo, ter critérios objetivos para a positividade, ser barato e de fácil realização⁽⁸⁾.

Uma nova geração de testes está sendo desenvolvida objetivando atingir essas características ideais. A identificação de regiões do genoma do *M. tuberculosis* que estão ausentes no BCG e em outras micobactérias ambientais permitiu a oportunidade do desenvolvimento dessas novas ferramentas diagnósticas. A região de diferença 1 (RD1), presente em

várias espécies de micobactérias, é deletada primariamente durante a transformação do *Mycobacterium bovis* para BCG, e conseqüentemente os genes decodificados por ela. A RD1 compreende os genes Rv3871 a Rv3879c, o que inclui os genes para o 6 kDa alvo antigênico precocemente-secretado (*early-secreted antigenic target* – ESAT-6) e a proteína homóloga L45 – cultura filtrada de proteína 10 (CFP-10). As duas proteínas codificadas por essas regiões, ESAT-6 e CFP-10, são utilizadas como antígenos específicos em virtude de sua ausência na vacina BCG e em outras micobactérias. Estes induzem uma forte resposta imune das células T em modelos experimentais, levando à produção de interferon- γ (IFN- γ), o qual é quantificado pelo teste^(8,11,16,29,30).

Evidências sugerem que os ensaios com base na detecção de IFN- γ têm um melhor desempenho que o PPD pelos seguintes motivos: alta especificidade, melhor correlação com medidas indiretas de exposição ao *M. tuberculosis* e menor reação cruzada com a vacinação por BCG e infecções por outras micobactérias^(11,31,32).

As primeiras versões destes testes (QuantiFeron-TB® – Cellestis Limited, Carnegie, Austrália), aprovadas pela FDA em 2001, utilizavam o PPD como um antígeno estimulador, o que levava aos mesmos problemas de especificidade vistos nos testes cutâneos. Por isso, este ensaio foi substituído por outro, o Quantiferon-TB-Gold®, que usa ESAT-6 e CFP-10 no lugar do PPD. O Quantiferon-TB-Gold® utiliza sangue total e quantifica a presença do IFN- γ por meio da técnica de ELISA (*Enzyme-Linked-ImmunoSorbent-Assay*). Após 16 horas a 24 horas de incubação, a quantidade de IFN- γ secretada pelos monócitos em resposta à estimulação com esses antígenos é mensurada⁽¹⁶⁾. O teste apresenta elevada especificidade (acima de 98%, contra 35,4% do PPD, usando um ponto de corte de 10 mm) em indivíduos saudáveis vacinados com BCG⁽³³⁾.

Estudo realizado na Coréia em voluntários sadios demonstrou uma baixa correlação entre o Quantiferon-TB-Gold® (15% de positividade) e o PPD (58% de positividade, para um ponto de corte de 10 mm), o que não acontece em países onde a TB não é endêmica⁽³⁴⁾. A concordância em países industrializados pode variar de 89% a 94%^(35,36).

Existem duas explicações para essa discordância. Uma seria com base no número de resultados falso-positivos do PPD, ocasionado principalmente pela vacinação com BCG e pela infecção por micobactérias ambientais. Outra, com base no número de resultados falso-negativos com o Quantiferon®, que pode subestimar a presença de ITBL, uma vez que os antígenos utilizados na técnica não são responsáveis

pela antigenicidade completa do *M. tuberculosis*⁽³⁴⁾, constituindo um possível problema em áreas endêmicas.

O T SPOT-TB (Oxford Immunotec, Oxford, Inglaterra) usa um ensaio de ELISPOT (*Enzyme-Linked-Immunospot Assay*) utilizando células mononucleares periféricas produtoras de IFN- γ em resposta à estimulação com ESAT-6 e CFP-10⁽⁸⁾.

Numerosos estudos têm sido realizados para determinar as características operacionais do T SPOT-TB no diagnóstico de ITBL, porém a ausência de um padrão-ouro nesses casos limita a qualidade dos estudos⁽⁸⁾. Para contornar esse problema, podem ser utilizadas duas formas diferentes de abordagens. Em uma, os resultados do novo teste são comparados diretamente com os do PPD, sendo em seguida calculado o nível de concordância. Essa forma de avaliação é útil, pois se pode comparar o desempenho do novo teste, com um já bastante conhecido, como o PPD⁽¹⁶⁾. Outra forma de abordagem é aquela em que é construído um instrumento de validade com base em critérios, por exemplo, características clínicas ou epidemiológicas, nas quais é possível correlacioná-las com o risco de se desenvolver a ITBL e a resultado do novo teste⁽³⁷⁾.

O T SPOT-TB foi inicialmente validado e comparado com o PPD em pacientes com cultura positiva para infecção tuberculosa e em controles sem doença. A sensibilidade alcançada foi de 96%, significativamente mais elevada do que a do PPD, que foi de 69%⁽³²⁾. Diferentemente do que ocorre com o PPD, o ELISPOT não é susceptível a falsos-negativos em casos de infecção ativa, bem como mantém alta sensibilidade em pacientes HIV-positivos infectados pelo *M. tuberculosis*⁽³⁸⁾.

Meier *et al.*⁽²⁹⁾ estudaram 92 pacientes alemães, com TB suspeita ou confirmada, comparando o T SPOT-TB com métodos diagnósticos convencionais. A sensibilidade do teste foi de 97,2% (positivo em 70 de 72 pacientes com TB ativa, pulmonar ou extrapulmonar). O PPD foi realizado em 45 destes pacientes, e somente 89% deles tiveram resultados positivos *versus* 100% do T SPOT-TB ($p = 0,056$). Dentre os 12 pacientes onde a infecção tuberculosa foi descartada, o T SPOT-TB foi negativo em 11 (92%), permitindo a rápida exclusão da infecção.

Tanto o Quantiferon-TB-Gold[®] quanto o ELISPOT-TB já estão aprovados na Europa, e de acordo com o National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), podem ser utilizados da seguinte forma⁽³⁹⁾:

- realizar o teste de Mantoux;
- nos casos em que o resultado for positivo, realizar o teste imunológico com base na detecção do IFN- γ ;

- se o teste for inconclusivo, encaminhar a um especialista em TB, para avaliação de ITBL.

O Quantiferon-TB-Gold[®] está aprovado também nos Estados Unidos, e o Center for Disease Control (CDC) recomenda que ele pode ser usado em todas as circunstâncias em que o PPD é atualmente utilizado, incluindo a investigação de contactantes de TB ativa, devendo ser utilizado em substituição e não em adição ao teste de Mantoux⁽⁴⁰⁾.

Apesar da aparente maior sensibilidade do ELISPOT e maior especificidade do Quantiferon, mais estudos são necessários antes que possam ser considerados superiores ao PPD no diagnóstico da ITBL em todas as situações clínicas. A escolha da melhor técnica dependerá do contexto clínico. Assim como o PPD, o resultado desses novos testes devem ser interpretados com cautela, levando-se sempre em consideração o estado epidemiológico da tuberculose na região estudada e as condições imunológicas individuais, que podem diminuir a resposta de ambos os testes⁽⁴¹⁾.

Até o presente momento só existe um trabalho publicado avaliando o desempenho do teste para detecção de IFN- γ em pacientes com AR. Takahashi *et al.*⁽⁴²⁾ utilizaram o Quantiferon-TB Gold[®] para o diagnóstico de ITBL, comparando com PPD, radiografia de tórax e história clínica, previamente e durante o uso de infliximabe. A taxa de concordância entre o Quantiferon[®] e os métodos tradicionais foi de 64,3%, sugerindo que o método é capaz de detectar ITBL em pacientes com AR não identificados por outros métodos, aumentando a segurança quando da utilização de um inibidor de TNF⁽⁴²⁾. Somente o teste do Quantiferon[®] foi capaz de identificar ITBL em dois pacientes. Por outro lado, esse teste foi negativo em três de cinco pacientes diagnosticados como ITBL pelos métodos convencionais⁽⁴²⁾.

A infecção tuberculosa ativa é uma séria possibilidade durante o tratamento com todos os anti-TNFs, principalmente em nosso país, área considerada endêmica para a doença. Importante lembrar que a forma de aparecimento da tuberculose nesses casos tende a ser extrapulmonar, grave e disseminada, o que confere maior morbidade e maior dificuldade diagnóstica. A implementação de estratégias para identificação de TB latente, principalmente na população de risco, pode diminuir o impacto da infecção tuberculosa nesses pacientes e a utilização de testes com base na produção de IFN- γ estimulada pelos antígenos específicos do *M. tuberculosis* ESAT-6 e CFP-10 pode ser de grande utilidade para detecção de ITBL em nossa população.

REFERÊNCIAS

1. Keane J: TNF-Blocking agents and tuberculosis: new drugs illuminate an old topic. *Rheumatology* 44: 714-20, 2005.
2. Stenger S: Immunological control of tuberculosis: role of tumor necrosis factor and more. *Ann Rheum Dis* 64: iv24-iv28, 2005.
3. Tufariello JM, Chan J, Flynn JL: Latent tuberculosis: mechanisms of host and bacillus that contribute to persistent infection. *Lancet Infect Dis* 3: 578-90, 2003.
4. Wallis RS, Broder MS, Wong JY, Hanson ME, Beenhouwer DO: Granulomatous infectious diseases associated with tumor necrosis factor antagonists. *Clin Infect Dis* 38: 1261-5, 2004.
5. Gomez-Reino JJ, Carmona L, Valverde VR, Mola EM, Montero MD: Treatment of rheumatoid arthritis with tumor necrosis factor inhibitors may predispose to significant increase in tuberculosis risk: a multicenter active-surveillance report. *Arthritis Rheum* 48: 2122-7, 2003.
6. Ormerod LP, Milburn HJ, Gillespie S, Ledingham J, Rampton D: BTS recommendations for assessing risk and managing *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease in patients due to start anti-TNF α treatment. *Thorax* 60: 800-5, 2005.
7. Pai M: Alternatives to the tuberculin skin test: interferon- γ assays in the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Indian J Med Micro* 23(3): 151-8, 2005.
8. Whalen CC: Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection. Measure for Measure. *JAMA* 293: 2785-7, 2005.
9. Corbett EL, Watt CJ, Walker N, et al.: The growing burden of tuberculosis: global trends and interactions with the HIV epidemic. *Arch Intern Med* 163: 1009-21, 2003.
10. Frieden TR, Sterling TR, Munsiff SS, et al.: Tuberculosis. *Lancet* 362: 887-9, 2003.
11. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM: Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 23: 1099-104, 2000.
12. Blumberg HM, Leonard MK, Jasmer RM: Update on the Treatment of Tuberculosis and Latent Tuberculosis Infection. *JAMA* 293: 2776-84, 2005.
13. Silva Jr JB: Tuberculose: Guia de Vigilância Epidemiológica. *J Bras Pneumol* 30: S57-S85, 2004.
14. Furin JJ, Johnson JL: Recent advances in the diagnosis and management of tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med* 11: 189-94, 2005.
15. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 49: 1-5, 2000.
16. Pai M, Gockhal EK, Joshi R, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* Infection in Health Care Workers in Rural India: Comparison of a Whole-Blood Interferon [γ] Assay With Tuberculin Skin Testing. *JAMA* 293: 2746-55, 2005.
17. Provenzano G, Ferrante MC, Simon G: TB screening and anti-TNF α treatment. *Thorax* 60: 612-5, 2005.
18. Mangini C, Melo FAF: Artrite reumatóide, terapia imunossupressora e tuberculose. *Rev Bras Reumatol* 43: XI-XV, 2003.
19. Cush JJ, Matteson EL: Hotline 2001 FDA Advisory Committee Review Safety of TNF Inhibitors. Disponível em: <http://www.rheumatology.org/publications/hotline/0901tnf.asp>. Acessado em: 2/11/2005.
20. Mariette X, Salmon D, and group ratio: French guidelines for diagnosis and treating latent and active tuberculosis in patients with RA treated with TNF blockers. *Ann Rheum Dis* 62: 791, 2003.
21. Panayi G, Corrigal V, Pitzalis C: Pathogenesis of rheumatoid arthritis. The role of cells and others beasts. *Rheum Dis Clin North Am* 161: 221-47, 2001.
22. Corrigal VM, Garyfallos A, Panayi GS: The relative proportions of secreted interleukin-2 and interleukin-10 determine the magnitude of rheumatoid arthritis T-cell proliferations to the recall antigen tuberculin purified protein derivative. *Rheumatology* 38: 1203-7, 1999.
23. Emery P, Panayi G, Symmons D, Brown G: Mechanisms of depressed delayed-type hypersensitivity in rheumatoid arthritis: the role of protein energy malnutrition. *Ann Rheum Dis* 43: 430-4, 1984.
24. Kingsley GH, Pitzalis C, Panay GS: Abnormal lymphocyte reactivity to self-major histocompatibility antigens in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 14: 667-73, 1987.
25. Martins MVBS, Lima MCBS, Dupprenc, et al.: The level of PPD-specific INF- γ -producing CD4⁺ T cells in the blood predicts the in vivo response to PPD. *Tuberculosis* 87: 202-11, 2007.
26. Ehrenstein MR, Evans JG, Singh A, et al.: Compromised Function of Regulatory T Cells in Rheumatoid Arthritis and Reversal by Anti-TNF- α Therapy. *JEM* 200: 277-85, 2004.
27. Ponce de León D, Acevedo-Vásquez E, Sánchez-Torres A, 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* 64: 1360-1, 2005.
28. Köker IH, Pamuk ÖN, Karlikaya C, Tunçbilek N, Çakır N: A low prevalence of purified protein derivative test positivity in Turkish patients with rheumatoid arthritis. Association with clinical features and HRCT findings. *Clin Exp Rheumatol* 25: 54-9, 2007.
29. Meier T, Eulenbruch HP, Wrighton-Smith P, Enders G, Regnath T: Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot assay (T SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 24: 529-36, 2005.
30. Pittius NCG, Gamielien J, Hide W, et al.: The ESAT-6 gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* and other high G+C Gram-positive bacteria. *Genome Biology* 2, RESEARCH0044, 2001. Epub 2001 Sep 19.
31. Barnes PF: Diagnosis latent tuberculosis infection: turning glitter to gold. *Am J Resp Crit Care Med* 170: 5-6, 2004.
32. Lalvani A: Spotting latent infection: the path to better tuberculosis control. *Thorax* 58: 916-8, 2003.
33. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al.: Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med* 170: 59-64, 2004.
34. Kang YA, Lee HW, Yoon HI, et al.: Discrepancy Between the Tuberculin Skin Test and the Whole-Blood Interferon- γ Assay for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection in an Intermediate Tuberculosis-Burden Country. *JAMA* 293: 2756-61, 2005.
35. Ewer K, Deeks J, Alvarez L, et al.: Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak. *Lancet* 361: 1168-73, 2005.

36. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P: Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med* 170: 65-9, 2004.
37. Kang YA, Lee HW, Yoon HI, et al.: Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon. *JAMA* 293: 2756-61, 2005.
38. Chapman AL, Munkanta M., Wilkinson KA, et al.: Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T-cells. *AIDS* 16: 2285-93, 2002.
39. NICE: National Institute for Health and Clinical Excellence – Guideline n°. 33. Disponível em: <http://guidance.nice.org.uk/CG33/guidance/pdf/English>. Acessado em: 1/7/2007.
40. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for the investigation of contacts of persons with infectious tuberculosis; recommendations from the National Tuberculosis Controllers Association and CDC, and Guidelines for using the QuantiFERON®-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States. *MMWR* 2005; 54 (No. RR-15). Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/PDF/rr/rr5415.pdf>. Acessado em: 1/7/2007.
41. Lee JY, Choi HJ, Park IN, et al.: Comparison of two commercial interferon-gamma assays for diagnosing *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Eur Respir J* 28: 24-30, 2006.
42. Takahashi H, Shigehara K, Yamamoto M, et al.: Interferon gamma assay for detecting latent tuberculosis infection in rheumatoid arthritis patients during infliximab administration. *Rheumatol Int* 27(12): 1143-8, 2007.

Publicação 2 – Capítulo de Livro

Epidemiologia das Doenças Reumáticas no Brasil
In: Freese, E. Epidemiologia, Políticas e Determinantes das
Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil. Recife,
Editora Universitária, p.212-229, 2006



11

Epidemiologia das Doenças Reumáticas no Brasil.

Claudia Diniz Lopes Marques

Ângela Luzia Branco Pinto Duarte

Yara de Miranda Gomes

Eduardo Freese de Carvalho

Este capítulo visa descrever a epidemiologia das doenças reumáticas crônicas mais prevalentes no Brasil, seus principais fatores de risco, além do impacto sócio-econômico destas nas sociedades contemporâneas.

dências etiológicas consistentes para a maioria delas. Deste modo, a classificação é dependente da combinação de achados clínicos e laboratoriais, incluindo anormalidades de estruturas anatômicas e sistemas envolvidos, mecanismos etiológicos prováveis, fatores genéticos e infecciosos.

O grupo de condições classificadas sob o termo *doença reumática* não apresenta um limite claro e definido. Dentro dele estão incluídas mais de 100 diferentes condições, incluindo AR, osteoartrite (OA), doenças auto-imunes (como o lúpus eritematoso sistêmico ou esclerose sistêmica), osteoporose, lombalgia, gota, fibromialgia e reumatismos de partes moles (tendinites e bursites).

Vários critérios de classificação são utilizados a fim de facilitar o diagnóstico das doenças reumáticas, sendo adotados no mundo todo. O objetivo principal da utilização destes critérios é padronizar a inclusão de pacientes em estudos clínicos e epidemiológicos, porém estes podem ajudar o clínico em sua prática diária no diagnóstico das enfermidades reumáticas. Em 2001, diferentes organizações, incluindo a ILAR (*International League Against Rheumatism*), ACR (*American College of Rheumatology*) e EULAR (*European League of Associations for Rheumatology*) reuniram-se com o objetivo de estabelecer um consenso dos critérios que deveriam ser adotados no diagnóstico das doenças reumáticas. Este consenso recomenda que estes critérios não sejam utilizados com muita rigidez na prática clínica, uma vez que não existem critérios com 100% de sensibilidade e especificidade, podendo levar a um erro diagnóstico³.

Dentre as doenças crônicas não transmissíveis, as doenças reumáticas apresentam elevada prevalência, sendo importante causa de incapacidade, tanto para a população produtiva economicamente, quanto para idosos.

Em um estudo realizado em Recife, foi verificada a repercussão das doenças crônicas não transmissíveis na concessão de auxílio-doença e aposentadoria por invalidez, concedidos pelo Instituto Nacional de Seguro Social (INSS)⁴. As doenças do sistema osteomuscular e do tecido conjuntivo (DOTC) responderam por 14,69% do total de auxílios doença concedidos no triênio 2000 e 2002. Estas representam a terceira causa de concessão deste benefício. Esta taxa só é inferior ao verificado para as doenças cardiovasculares (23,62%) e

transtornos comportamentais mentais (15,14%)⁴. Quando analisada a distribuição segundo causas específicas dentro do grupo das DOTC, as causas mais expressivas para concessão do benefício foram as dorsopatias (32,4%), seguido da osteoartrite (18,2%) e poliartropatias inflamatórias (12%). Interessante notar que as doenças de partes moles, como transtornos de sinóvias e tendões (9,4%), outros transtornos articulares (7,9%) e outros transtornos de tecidos moles (7,6%) representam juntos 24,9%, cerca de um quarto das causas responsáveis por auxílio doença no interior deste grupo⁴.

O impacto sócio econômico das doenças reumáticas pode ser mensurado através de parâmetros como a mortalidade, desconforto, incapacidade, efeitos adversos relacionados ao tratamento e custos. Em 1981, a Organização Mundial de Saúde (OMS) lançou em Genebra, em associação com a ILAR o projeto COPCORD (*Community Oriented Program for the Control of Rheumatic Diseases*). Este projeto tem como base a construção de um banco de dados sobre doenças reumáticas em países emergentes, identificando o impacto sócio econômico destas doenças e seus principais fatores de risco, e vem sendo utilizado em 17 países, incluindo o Brasil. Dados de estudos realizados aplicando o COPCORD demonstram que as lombalgias e as dores nos joelhos são as queixas mais freqüentes, e que assim como em países desenvolvidos, as doenças mais prevalentes são a osteoartrite e a artrite reumatóide⁵. A tabela 1 mostra dados de estudos publicados utilizando a metodologia do COPCORD, entre os anos de 2003 a 2005.

Tabela 1

Prevalência das doenças reumáticas entre os anos de 2003 a 2005⁵

	Brasil (n=3038) ¹	China (n=6684) ²	Austrália (comunidade aborigene) (n=1109) ³	Vietnam (n=2119) ⁴
Sintomas músculo-esqueléticos	30,9%	13,3%	14,5%	33%
Osteoartrite	4,14%	4,1%	5,5%	4,1%
Artrite Reumatóide	0,46%	0,28%	0%	0,28%

Não dispomos de inquéritos epidemiológicos multicêntricos de base populacional no Brasil sobre a prevalência/incidência, taxa de mortalidade ou sobre os custos destas doenças. Entretanto, foram realizados estudos isolados em algumas cidades brasileiras, todos de base hospitalar.

EPIDEMIOLOGIA

Aproximadamente 30% da população geral apresenta sintomas relativos ao aparelho músculo esquelético, sendo que do total, um terço não procura atendimento médico. Caracteristicamente as doenças reumatológicas apresentam alta incidência e prevalência, com baixa letalidade (figura 1).

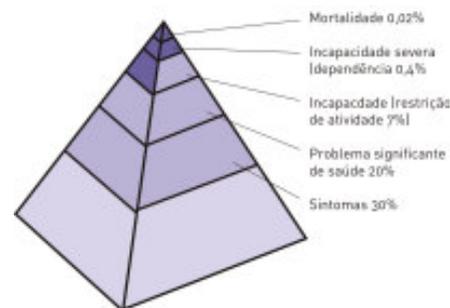


Figura 1 – Proporção de níveis de incapacidade e mortalidade nas doenças reumatológicas¹⁰.

É de extrema importância que o clínico geral que inicia o acompanhamento da pessoa com queixa músculo-esquelética seja capaz de reconhecer e diferenciar doenças reumáticas simples, como reumatismos de partes moles, de outras mais graves e complexas, como as doenças auto-imunes, utilizando como principal ferramenta a propedêutica. Uma boa anamnese e um exame físico bem feito, aliados à experiência clínica, evitam a solicitação desnecessária de exames laboratoriais e de imagem, permitindo uma melhor utilização dos recursos financeiros destinados à saúde.

A utilização de estudos epidemiológicos pode ser útil para o diagnóstico diferencial de muitas doenças reumáticas. A idade de início dos sintomas e o sexo podem ser forte indicadores do diagnóstico em questão. Como pode ser observado na tabela 2, a Febre Reumática, por exemplo, compromete quase que exclusivamente crianças (entre 5 e 12 anos), sem preferência por sexo, enquanto a gota é muito mais freqüente em homens, após os 50 anos de idade¹⁰.

Em um estudo realizado em um Hospital Universitário do Rio de Janeiro, com o objetivo de estimar a prevalência das doenças reumatológicas atendidas, através do levantamento dos totais de atendimentos ambulatoriais e do ambulatório especializado de Reumatologia, as doenças reumatológicas situaram-se entre as de maior freqüência. Do total de pacientes atendidos, cerca de 1/50 pacientes apresentava doença reumatológica e 1/100 pacientes tinha diagnóstico de doença inflamatória reumatológica, sendo a de maior freqüência a artrite reumatóide¹¹.

Tabela 2

Doenças reumáticas mais freqüentes de acordo com o sexo e a faixa etária. (Adaptado de Bjelle¹⁰).

	HOMENS	AMBOS OS SEXOS	MULHERES
Crianças e adolescentes (<16 anos)	Hemofilia	Febre reumática* Artrite Crônica da Infância	
Adultos jovens (>16 anos até 40 anos)	Artrite Reativa Espondilite Anquilosante	Artrite Psoriásica	Lupus Eritematoso Sistêmico Artrite Reumatóide
Meia idade (>40 anos até 60 anos)	Gota	Osteoartrite	Artrite Reumatóide Osteoartrite
Idosos (>60 anos)		Doença por deposição de pirifostato de cálcio Polimalgia reumática Osteoporose Osteoartrite Artropatia associada à malignidade	

* Até 12 anos

Apesar da grande necessidade de consultas especializadas nesta área, ainda é deficitário o número de unidades de serviço de saúde pública que prestam atendimento em reumatologia. O acesso é difícil, especialmente para os moradores de regiões menos favorecidas¹². Além disso, por se tratarem de doenças crônicas de longa duração com baixo índice de altas/curas, associado à falta de ampliação dos serviços de saúde especializados e principalmente pela escassez de recursos humanos, ocorre uma acúmulo de pacientes, dificultando ainda mais o acesso.

1. Osteoartrite

A osteoartrite (OA) é uma doença crônico-degenerativa, que ocorre devido às alterações mecânicas, bioquímicas e inflamatórias em articulações sinoviais. Está associada com o envelhecimento e afeta predominantemente articulações que suportam peso, como joelhos, quadril e coluna lombar, podendo ainda comprometer as mãos¹³. É considerada a doença mais comum do aparelho locomotor e a maior causa de incapacidade, tanto em países desenvolvidos quanto nos chamados países emergentes. Com o aumento da longevidade da população, a prevalência da OA vem aumentando e suas conseqüências trazem um grande impacto sócio-econômico. Aproximadamente 40% dos adultos com idade acima de 70 anos apresentam OA de joelhos e 80% dos que apresentam a doença têm algum tipo de limitação de movimento¹³.

Embora tenha sido por muito tempo considerada uma doença benigna, alterações degenerativas importantes, principalmente nas articulações que suportam peso, podem causar séria incapacidade, mesmo para atividades do dia a dia, tornando-a uma doença crônica extremamente dispendiosa para a sociedade, tanto do ponto de vista humano como econômico¹⁴. Estima-se que nos próximos 20 anos o número de pessoas nos Estados Unidos com doença articular aumente de, aproximadamente 43 milhões para mais de 60 milhões, elevando deste modo o custo da incapacidade crônica em mais de 25%¹⁴. Programas de atendimento visando principalmente à prevenção, mas também o diagnóstico e tratamento precoces da doença podem ajudar a minimizar os prejuízos que esta pode trazer ao indivíduo e à sociedade¹⁴.

A incidência de OA de joelhos varia de 164 a 240/ 100.000 pessoas/ano, sendo mais comum no sexo feminino. Na coorte Framingham, mulheres (média de idade de 71 anos) desenvolveram OA radiográfica de joelhos numa frequência de 2% ao ano e OA sintomática de joelhos de 1% ao ano, enquanto em homens as frequências foram 1,4 e 0,7%, respectivamente. A OA de quadril tem uma prevalência de 10,8% em pessoas com idade acima de 35 anos, podendo chegar a 35% em pessoas acima de 85 anos de idade. Na OA de joelhos a incidência acima dos 80 anos pode chegar a 44%¹⁵.

Na América Latina a OA também apresenta elevada prevalência sendo responsável por aposentadorias precoces, incapacidades e absenteísmo em todos os países, particularmente no Brasil, México, Cuba e Costa Rica. Importante salientar o fato de que em todos os países, cada paciente apresenta pelo menos uma comorbidade, como hipertensão arterial, obesidade e *diabetes mellitus*, o que aumenta ainda mais o impacto sócio-econômico para os serviços de saúde pública¹⁶.

A contribuição genética no desenvolvimento da OA já esta bem estabelecida, principalmente no caso da OA nodal das mãos¹⁷. Além da genética, outros fatores considerados de risco são: lesão articular prévia, idade avançada, obesidade e deficiência estrogênica¹⁸. É de suma importância o reconhecimento destes fatores potencialmente modificáveis, pois através de intervenções adequadas, podemos diminuir o impacto sócio-econômico da OA, com conseqüente melhora da qualidade de vida para esta população.

2. Artrite Reumatóide

A Artrite Reumatóide (AR) é uma doença inflamatória sistêmica que afeta predominantemente a membrana sinovial de articulações diartrodiais. A severidade do comprometimento articular pode variar desde uma forma auto-limitada até doença progressiva crônica, causando graus variados de destruição articular e conseqüente incapacidade. A sua distribuição é mundial, afeta todos os grupos étnicos, e quanto ao gênero é duas vezes e meia mais freqüente em mulheres. Pode ocorrer em qualquer idade, porém a prevalência tende a aumentar com a idade, com um pico de incidência entre a quarta e quinta décadas de vida¹⁹.

Estudos de prevalência e incidência da AR são realizados baseados nos critérios de classificação do ACR, uma vez que não dispomos de testes definitivos para seu diagnóstico. A sensibilidade e a especificidade destes critérios são de aproximadamente 90%²⁰.

Uma prevalência de 0,2% da doença, foi encontrada na Argentina, entre os anos de 1998 e 1999²¹. Na cidade do México, um grupo de pesquisadores utilizando o COPCORD, encontrou uma prevalência de 0,3% de AR²².

Mais recentemente, utilizando esta mesma metodologia, um estudo transversal com 3038 pacientes, na cidade de Montes Claros (Minas Gerais) revelou uma prevalência de AR em 0,5%²⁶. Em um estudo multicêntrico realizado no Brasil em 1993 para verificar a prevalência da AR em adultos em amostras populacionais das macro-regiões do país, a prevalência da AR variou entre 0,2 e 1,0%, semelhante ao encontrado em outros países²³.

A prevalência da doença parece ser menor em populações de origem japonesa. Um estudo realizado em Mogi das Cruzes (SP) com uma amostra populacional de japoneses e seus descendentes diretos demonstrou uma prevalência de apenas 0,2%, resultados muito semelhantes aos encontrados em um outro estudo realizado no Japão, empregando a mesma metodologia. Estes achados sugerem que podem existir fatores “protetores” para AR na população japonesa, que não sofreram alterações com as mudanças ambientais²⁴.

Dentre os fatores de risco para a AR temos fatores genéticos (associação com o antígeno de histocompatibilidade classe II HLA-DR1 e DR4), hormonais sexuais (óbvia predominância no sexo feminino) e idade (entre a quarta e quinta décadas de vida)¹.

Além do elevado grau de incapacidade gerado pela AR, o que gera custos elevados diretos e indiretos, a taxa de mortalidade na AR é mais elevada devido principalmente a infecções, doença renal, doença respiratória e atividade da própria doença. Deste modo, é de extrema importância o seu diagnóstico precoce e instituição de terapêutica adequada, a fim de minimizarmos as incapacidades e reduzir o impacto financeiro da doença sobre o sistema de saúde. Em algumas situações, quando a doença é refratária ao tratamento convencional, está indicada a utilização das chamadas drogas biológicas, que apresentam um custo bastante elevado. No entanto estes custos são compensados quando levamos em consideração a diminuição da perda de produtividade e incapacidade permanente e a redução do número de procedimentos cirúrgicos, como a colocação de próteses articulares.

3. Osteoporose

A osteoporose é a doença osteo-metabólica mais freqüente, sendo ca-

racterizada por diminuição da massa óssea (densidade mineral óssea abaixo de 2,5 DP quando comparado com indivíduos jovens) e deterioração da microarquitetura óssea com conseqüente aumento do risco de fratura, única conseqüência clínica importante da doença e que representa um grande problema de saúde pública. As fraturas osteoporóticas mais importantes são as de vértebras, colo do fêmur e radio distal. Tais fraturas se associam à elevada morbidade e, no caso das fraturas de colo do fêmur, não apenas a uma maior mortalidade, mas também a um aumento substancial nos custos da assistência à saúde²⁵.

Acomete principalmente mulheres brancas após a menopausa podendo, no entanto, ocorrer também em homens após os 70 anos de idade²⁶. Em um estudo de prevalência de osteoporose realizado em Recife, através da análise densitométrica, de 627 mulheres, com idade acima de 50 anos foi verificada uma prevalência de 28.8% na coluna lombar e de 18.8% no colo do fêmur, sendo mais elevada nas pacientes que apresentaram história de fraturas quando jovens. Das pacientes com mais de 80 anos 54.5% tinham osteoporose na coluna lombar e 72.7% no colo do fêmur²⁶.

A incidência de fratura de quadril varia consideravelmente entre os países, sendo mais freqüente em brancos caucasóides. Nos países em desenvolvimento, os dados são escassos e o impacto sócio econômico da osteoporose ainda não está bem definido. Em um estudo realizado na cidade de Marília (SP), entre 1994 e 1995, a incidência idade-ajustada de fratura de quadril foi de 28,8/10.000 habitantes/ano para mulheres acima de 60 anos, enquanto que nos homens desta mesma faixa etária, a incidência foi de 12,6/10.000 habitantes/ano²⁷. Um outro estudo realizado na cidade de Sobral (CE), entre 1996 e 2000, demonstrou uma incidência de 20,7 e 8,9 fraturas de quadril/10.000 habitantes/ ano em mulheres e homens acima de 60 anos, respectivamente. Estes dados mostram que a incidência de fraturas no país é muito mais baixa quando comparada com números de outros países²⁸. Em Oslo, na Noruega, a incidência chega a 122/10.000 habitantes/ ano em mulheres. A variabilidade da incidência de fraturas parece estar relacionada a fatores genéticos e ambientais, que agiriam como fatores “protetores do osso”²⁹.

Os fatores de risco conhecidos para osteoporose podem ser divididos em modificáveis e não modificáveis. Dentre os não modificáveis podemos citar a hereditariedade (raça branca ou amarela, história familiar e estrutura óssea pequena), idade avançada e sexo feminino. Os fatores modificáveis são deficiência estrogênica, hábitos de vida (sedentarismo, tabagismo, excesso de cafeína e álcool), fatores nutricionais (baixa ingestão de cálcio e vitamina D, desnutrição), baixo peso corporal e uso de drogas (principalmente os glicocorticóides). Além disso, a osteoporose pode aparecer secundariamente a doenças sistêmicas, como o hiperparatireoidismo primário, doença de Cushing, doença renal e neoplasias²⁵.

O risco de fraturas é maior em mulheres com baixa massa óssea do que em homens, e este risco aumenta à medida que o indivíduo envelhece em ambos os sexos, paralelamente à queda da densidade mineral óssea. Indivíduos com uma fratura osteoporótica prévia têm um risco maior de desenvolver uma fratura subsequente. Aproximadamente 20% das mulheres na pós-menopausa que apresentam uma fratura vertebral terão uma segunda fratura em um ano e pacientes com fratura de colo de fêmur têm 3 a 10 vezes mais chance de já ter tido uma fratura vertebral e duas vezes mais de ter tido uma fratura de Colles³⁰.

O aparecimento destas fraturas traz um enorme custo sócio econômico e um aumento da morbi-mortalidade. Uma fratura de quadril está associada com uma redução de 20% na expectativa de vida. Muitos pacientes se tornam permanentemente incapacitados e um terço deles se torna totalmente dependente³⁰. A adoção de medidas preventivas para osteoporose é uma estratégia simples, de baixo custo e eficaz, diminuindo o risco de fraturas e minimizando o impacto da doença na saúde pública.

4. Distúrbio osteomuscular relacionado ao trabalho (DORT)

A norma técnica do INSS sobre DORT (Ordem de Serviço/INSS n.º 606/1998) a conceitua como uma síndrome clínica caracterizada por dor crônica, acompanhada ou não de alterações objetivas, que se manifesta principalmente no pescoço, cintura escapular e/ou membros superiores em de-

corrência do trabalho, podendo afetar tendões, músculos e nervos periféricos. O diagnóstico anatômico preciso desses eventos é difícil, particularmente em casos subagudos e crônicos, e o nexos com o trabalho tem sido objeto de questionamento, apesar das evidências epidemiológicas e ergonômicas.

No Brasil, o aumento da incidência de DORT pode ser observado nas estatísticas do INSS de concessão de benefícios por doenças profissionais, caracterizando uma verdadeira epidemia da doença³¹. Segundo os dados disponíveis, no estado de São Paulo, no ano 2000, os benefícios e aposentadorias por invalidez decorrentes de doenças profissionais concedidos pela Previdência Social, chegaram a 56%, sendo considerada atualmente a principal causa de incapacidade e afastamento prematuro do trabalho³¹. Em Recife estes foram responsáveis por 14,69%⁴.

Estudos epidemiológicos realizados em algumas cidades brasileiras como Salvador³², Belo Horizonte³³ e São Paulo³⁴ observaram que a frequência de atendimento por doença osteoarticular nos serviços públicos de referência para doenças do trabalhador variou de 11,5% a 60,7%. Na década de 70, a prevalência de DORT no Estado de São Paulo era de cerca de 1%. Hoje a prevalência passa de 50%, uma verdadeira epidemia, ultrapassando causas antes mais prevalentes, como as dermatoses e o saturnismo³¹.

Vários fatores associados ao trabalho concorrem para a ocorrência de DORT como a repetitividade de movimentos, a manutenção de posturas inadequadas, o esforço físico, a invariabilidade de tarefas, a pressão mecânica sobre determinados segmentos do corpo, o trabalho muscular estático, impactos e vibrações. A intensificação do ritmo da jornada e da pressão por produção e a perda acentuada do controle sobre o processo de trabalho por parte dos trabalhadores, têm sido apontados como os principais determinantes para a disseminação da doença³⁵.

A postura de trabalho pode ser considerada um fator gerador de DORT, principalmente se associada ao uso de equipamentos inadequados. Em um estudo realizado com bancários na cidade de Pelotas (RS), observou-se que aqueles que passavam a maior parte de sua jornada sentados apresentaram quase 30%

mais sintomas de distúrbios osteomusculares do que os demais, provavelmente por permanecerem numa mesma posição durante um longo período, além de utilizarem equipamentos de trabalho muitas vezes mal posicionados³⁶.

Além das condições de trabalho, a susceptibilidade individual também deve ser levada em consideração como fator de risco para desenvolvimento de DORT. Esta poderia ser definida como aumento da vulnerabilidade para distúrbios osteomusculares, incluindo variáveis como idade, gênero, diferenças anatômicas, tipo de tecido, alcoolismo e tabagismo, personalidade, distúrbios psiquiátricos, doenças inflamatórias gerais, doenças neuromusculares, doenças metabólicas e neoplasias, sendo os mais importantes a idade avançada, doenças inflamatórias e *diabetes mellitus*. No entanto, é importante ressaltar que a presença da susceptibilidade individual não diminui a importância dos fatores laborais; apenas faz-nos lembrar que os sintomas osteomusculares podem ser resultados de outros fatores, além dos laborais³⁷.

5. Lombalgia

A lombalgia, caracterizada por dor localizada entre a última costela e a prega glútea, é uma das alterações músculo-esqueléticas mais comuns nas sociedades industrializadas, segunda razão mais freqüente da procura por consulta médica, afetando 70% a 80% da população adulta em algum momento da vida, tendo predileção por adultos jovens, em fase economicamente ativa, sendo uma das razões mais comuns para aposentadoria por incapacidade total ou parcial³⁸.

Um levantamento realizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), mostrou que mais da metade da população mundial sofre de dores lombares pelo menos uma vez na vida. Segundo Associação Médica Brasileira (AMB), e o Conselho Federal de Medicina (CFM), a dor lombar constitui uma causa freqüente de morbidade e incapacidade sendo superada apenas pela cefaléia nas escalas de distúrbio que afetam o homem³⁹.

Inúmeras circunstâncias contribuem para o desencadeamento e cronificação das síndromes dolorosas lombares tais como: psicossociais, insatisfação laboral,

obesidade, tabagismo, grau de escolaridade, realização de trabalhos pesados, sedentarismo, síndromes depressivas, litígios trabalhistas, fatores genéticos e antropológicos, hábitos posturais³⁹. A identificação destes fatores, bem como a adoção de medidas que visam a reabilitação, como educação do paciente, atividade física e fisioterapia podem trazer grande melhora do quadro doloroso nas lombalgias crônicas. Hoje se advoga a reintegração precoce às atividades laborais, uma vez que o repouso prolongado, além de fazer a pessoa se sentir “doente”, descondiciona a musculatura paravertebral e de membros inferiores, dificultando a reabilitação.

6. *Fibromialgia*

A Fibromialgia (FM) é caracterizada por uma síndrome dolorosa crônica difusa, com duração maior do que três meses, de etiologia desconhecida, que acomete principalmente mulheres. A prevalência da FM na população geral varia de 0,5 a 5%, chegando a 15,7% em consultórios especializados. A média de idade de início da doença é de aproximadamente 42 anos, com um tempo de duração médio de 10 a 12 anos⁴⁰. Foram investigadas 485 pacientes com queixa de dor crônica, na cidade de São Paulo, de janeiro a agosto de 2000 e observado que em 21% dos casos o diagnóstico era fibromialgia, sendo 86,8% de mulheres com uma média de idade de 49,5 anos⁴¹.

O impacto sócio econômico da FM é maior quando da persistência dos sintomas, uma vez que é responsável pelo afastamento prematuro da força de trabalho, gerando custos associados com o tratamento em si e custos indiretos consideráveis. Estes últimos não podem ser quantificados com certeza, mas estima-se que cerca de 15 a 20% do total de custos no campo de reumatologia seja devido à FM⁴².

Os principais fatores de risco para FM são: idade (pessoas mais jovens tendem a desenvolver a doença mais frequentemente que idosos), sexo feminino, história familiar positiva para a doença, presença de distúrbios do sono e de outras doenças dolorosas crônicas, como AR ou lupus eritematoso sistêmico. Alguns fatores devem ser investigados em casos de refratariedade ao tratamento, como alterações posturais, nutricionais, distúrbios hormonais, doenças

infamatórias ou infecciosas crônicas⁴³. Educação e atividade física aeróbica são as principais formas de tratamento na doença primária, além do uso de medicamentos analgésicos e antidepressivos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As doenças reumáticas crônicas causam um enorme impacto no sistema de saúde e são causa de significativa incapacidade, perda de produtividade e redução da qualidade de vida. O grande desafio hoje consiste no controle destas enfermidades, através da adoção de medidas de prevenção e tratamento eficazes. Em muitas situações, o custo para implantação destas medidas é bem menor do que o que se gasta com as seqüelas deixadas por este grupo de enfermidades ou com benefícios e aposentadoria precoce, como o que acontece com a artrite reumatóide ou com as fraturas osteoporóticas. A adoção de uma política de saúde voltada para a promoção de saúde e diagnóstico precoce, com a identificação dos fatores de risco para cada doença é o passo inicial para melhoria da qualidade de vida no futuro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.SHANGA O. Epidemiology of rheumatic diseases. *Rheumatology* 2000; 39(suppl. 2): 3-12
- 2.LANDRE-BEAUVAIS A.J. The first description of Rheumatoid Arthritis. Unabridged text of doctoral dissertation presented in 1800. *Joint Bone Spine*, 2001; 68: 130-143.
- 3.BROOKS P, HOCHBERG M. Outcome measures and classification criteria for the rheumatic diseases. A compilation of data from OMERACT (Outcome Measures for Arthritis Clinical Trials), ILAR (International League of Associations for Rheumatology), regional leagues and other groups. *Rheumatology* 2001; 40: 896-906
- 4.MOURA A.A.G.M. A repercussão das doenças crônicas não-transmissíveis (DCNT) nas

concessão de auxílios-doença e aposentadorias por invalidez no Instituto Nacional de Seguro Social (INSS). Tese (Mestrado) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – FIOCRUZ. Recife, março de 2005

5. MUIRDEN K.D. Community Oriented Program for the Control of Rheumatic Diseases: studies of rheumatic diseases in developind world. *Curr Opin Rheumatol* 2005, 17: 153-156.
6. SENNA E.R., De BARROS A.L., SILVA E.O. et al. Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. *J Rheumatol* 2004; 31: 594-597.
7. DAI S.M., HAN X.H, ZHAO D.B. et al. Prevalence of rheumatic symptoms, rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis and gout in Shanghai, China: a COPCORD study. *J Rheumatol* 2003; 30:2437-2443
8. MINAUR N et al. Rheumatic diseases in Australian aboriginal community in North Queensland, Australia: a WHO-ILAR COPCORD survey. *J Rheumatol* 2004; 31: 965-972.
9. MINH HOA T.T. et al. Prevalence of the rheumatic diseases in urban Vietnam: a WHO-ILAR COPCORD study. *J Rheumatol* 2003; 30:2252-2256
10. BJELLE A. Age and aging in rheumatic disease. In *Rheumatology by Klippel and Dieppe*, Mosby Textbook, 1995 (versão eletrônica em CD).
11. AZEVEDO M.N., ROIMICHER L., FISZMAN, R., et al. Avaliação das doenças reumáticas ambulatoriais: Hospital Universitário/ Universidade Federal do Rio de Janeiro. *Rev Bras Reumatol* 1994; 34(1): 23-26.
12. SOUZA D.C.C., MINTO C.M., CICONELLI R.M. Atendimento em Reumatologia no Município de São Paulo: Análise na Gestão Plena do Sistema Único de Saúde (SUS) – Ano 2004. *Rev Bras Reumatol* 2006; 46(2): 93-102.
13. ISSA S.N., SHARMA L. Epidemiology of osteoarthritis: an update. *Curr Rheumatol Rep.* 2006 Feb;8(1):7-15.
14. BROOKS M.P. Impact of osteoarthritis on individuals and society: how much disability? Social consequences and health economic implications. *Curr Op Rheumatol* 2002, 14:573-577.
15. FELSON D.T., ZHANG Y., HANNAN M.T., et al. The incidence and natural history of knee osteoarthritis in the elderly: the Framingham osteoarthritis study. *Arthritis Rheum* 1995; 38:1500–1505.
16. MALDONADO, N.G. Epidemiology of osteoarthritis in Latin América. *Rev Bras Reumatol* 1994; 34 (5): 261-266.
17. JORDAN J.M., KRAUS V.B., HOCHBERG M.C. Genetics of osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep.* 2004 Feb;6(1):7-13

18. SHARMA L., KAPOOR D., ISSA S. Epidemiology of osteoarthritis: an update. *Curr Opin Rheumatol* 2006; 18: 147-156
19. GORONZY J.J., WEYAND C.M. Rheumatoid Arthritis. Epidemiology, Pathology and Pathogenesis. In *Primer on the Rheumatic Disease*. Klippel J.H., Crofford L.J., Stone J.H., Weyand C.M. (eds). Arthritis Foundation, Georgia, USA, 2001, p. 209-217.
20. ARNETT F.C., EDWORTHY S.M., BLOCH D.A. et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-324.
21. SPINDLER A., BELLOMIO V., BERMAN A. et al. Prevalence of rheumatoid arthritis in Tucuman, Argentina. *J Rheumatol* 2002; 29: 1166-1170.
22. CARDIEL M.H., ROJAS-SERRANO J. Community based study to estimate prevalence, burden of illness and help seeking behavior in rheumatic disease in México City. A COPCORD study. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20: 617-624.
23. MARQUES NETO J.F., GONÇALVES E.T., LANGEN L.F.O.B., CUNHA, M.F.L., RADOMINSKY, S., OLIVEIRA, S.M et al. Estudo multicêntrico da prevalência da Artrite Reumatóide do adulto em amostras da população brasileira. *Rev Bras Reumatol*, 1993; 33(5); 169-173.
24. SATO E.I., SCHICHIKAWA K., ATRA E., INOUE K., TAKENAKA Y. Estudo da prevalência de artrite reumatóide em população de origem japonesa em Moji das Cruzes, São Paulo. *Rev Bras Reumatol* 1990; 30(5): 133-136.
25. NEVITT M.C. Osteoporosis: Epidemiology, Pathology and Pathogenesis. In: *Primer on the Rheumatic Disease*. Klippel J.H., Crofford L.J., Stone J.H., Weyand C.M. (eds). Arthritis Foundation, Georgia, USA, 2001, p. 511-518.
26. BANDEIRA, F.A. Prevalência de osteoporose, fraturas vertebrais, ingestão de cálcio, e deficiência de vitamina d em mulheres na pós-menopausa. Tese (Doutorado) – Escola Nacional de Saúde Pública / Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – FIOCRUZ. Recife, março de 2003.
27. KOMATSU R.S., SIMÕES M.F.J., RAMOS L.R., SZENJNFELD V.L. Incidence of fractures of the proximal femur in Marília, São Paulo, Brazil, 1994-1995. *Rev Bras Reumatol* 1999; 39: 325-331
28. ROCHA F.A.C., RIBEIRO, A.R. Baixa Incidência de Fraturas de Quadril associadas à osteoporose em Sobral-CE. *Rev Bras Reumatol* 2004; 44(4): 255-258.
29. LINDSAY R., SILVERMAN S.L., COOPER C. et al. Risk of a new vertebral fracture in the year following a fracture. *JAMA* 2001; 285:320-323.
30. KARLSSON M.K., GERDHEIM P., AHLBORG H.G. The prevention of osteoporotic fractures. *J Bone Joint Surg* 2005; 87:1320-1327

31. WÜNSCH FILHO V. Perfil Epidemiológico dos trabalhadores. Rev Bras Med Trab 2004; 2 (2): 103-117.
32. RÊGO M.A.V., PEREIRA R.A.G. Acidentes e doenças do trabalho no complexo químico e petroquímico da Bahia. In: Franco T, organizador. Trabalho, riscos industriais e meio ambiente: rumo ao desenvolvimento sustentável? Salvador: EDUFBA; 1997. p. 159-87
33. NUSAT. Brasil. Núcleo de Referência em Doenças Ocupacionais da Previdência Social. Relatório Anual 1993. Belo Horizonte: Nusat; 1993.
34. UEHARA M.K. Relatório da consolidação dos dados de atendimento ambulatorial dos serviços participantes do projeto de cooperação técnica Brasil-Itália. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Centro de Vigilância Sanitária. Divisão de Saúde do Trabalhador. São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde; 1999. (Mimeografado) *apud* Wunsch Filho V. Perfil Epidemiológico dos trabalhadores. Rev Bras Med Trab 2004; 2 (2): 103-117.
35. MERLO A.R.C., JACQUES M.G.C., HOEFEL M.G.L. Trabalho de Grupo com Portadores de Ler/Dort: Relato de Experiência. Psicol Reflex Crit 2001; 14 (1): 253-258.
36. BRANDÃO A. G., HORTA B.L., TOMASI E. Sintomas de distúrbios osteomusculares em bancários de Pelotas e região: prevalência e fatores associados. Rev Bras Epidemiol 2005; 8(3): 295-305.
37. MAENO M., ALMEIDA I. M., MARTINS M., TOLEDO L. F., PAPARELLI R. Diagnóstico, tratamento, reabilitação, prevenção e fisiopatologia das LER/DORT. In: <http://www2.uol.com.br/prevler/Livros/mm-et-al-2.rtf>, acessado em 23 de julho de 2006.
38. CHORATTO R.M.G., STABILLE S.R. Incidência de lombalgia entre pacientes encaminhados em 2001 a uma instituição privada de saúde para tratamento fisioterápico. Arq Ciências Saúde UNIPAR 2003; 7 (2): 99-106.
39. BRAZIL, A. V. *et.al* Diagnóstico e Tratamento das Lombalgias e Lombociatalgias. Consenso Médico Brasileiro. Projeto Diretrizes. 2001
40. NEUMANN L, BUSKILA D. Epidemiology of fibromyalgia. Curr Pain Headache Rep. 2003 Oct;7(5):362-8.
41. TEIXEIRA, M.J., TEIXEIRA, W.G.J., SANTOS, F.P.S., ANDRADE, D.C.A., BEZERRA, S.L., FIGUEIRÓ, J.B., OKADA, M. Epidemiologia clínica da dor músculo-esquelética. Rev. Med 2001; 80: 1-21
42. NÖLLER V, SPROTT H. Prospective Epidemiological Observations on the Course of the Disease in Fibromyalgia Patients. J Negat Results Biomed 2003; 2: 4. Published online 2003 August 23. doi: 10.1186/1477-5751-2-4.
43. GERWIN R. A review of myofascial pain and fibromyalgia— factors that promote their persistence. Acupuncture In Medicine 2005;23(3):121-134