Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Faculdade de Ciências Médicas

Renata Fernandes de Amorim

Comparaçâo entre o *Interferon-Gamma Release Assay* e o teste cutâneo tuberculínico para rastreio de tuberculose latente antes e durante a terapia anti-TNFα em pacientes com doença inflamatória intestinal no Rio de Janeiro, Brasil

Rio de Janeiro
2018

Renata Fernandes de Amorim

Comparação entre o *Interferon-Gamma Release Assay* e o teste cutâneo tuberculínico para rastreio de tuberculose latente antes e durante a terapia anti-TNFα em pacientes com doença inflamatória intestinal no Rio de Janeiro, Brasil

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.ª Dra. Ana Teresa Pugas de Carvalho

Coorientador: Prof. Dr. Antonio José de Vasconcellos Carneiro

Rio de Janeiro

2018

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

A524 Amorim, Renata Fernandes de.
Comparação entre o interferon-gamma release assay e o teste cutâneo tuberculínico para rastreio de tuberculose latente antes e durante a terapia anti-TNFα em pacientes com doença inflamatória intestinal no Rio de Janeiro, Brasil / Renata Fernandes de Amorim. – 2018.
69 f.

Orientadora: Prof.ª Dra. Ana Teresa Pugas de Carvalho.
Coorientador: Prof. Dr. Antonio José de Vasconcellos Carneiro.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Intestinos – Doenças inflamatórias - Teses. 2. Tuberculose Latente. 3. Interferon gama. 4. Testes cutâneos. I. Carvalho, Ana Teresa Pugas de. II. Carneiro, Antonio José de Vasconcellos. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 616.34

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB7/6382

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

_____ _____

Assinatura Data

Renata Fernandes de Amorim

Comparação entre o *Interferon-Gamma Release Assay* e o teste cutâneo tuberculínico para rastreio de tuberculose latente antes e durante a terapia anti-TNFα em pacientes com doença inflamatória intestinal no Rio de Janeiro, Brasil

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 5 de julho de 2018.

Orientadora: Prof.ª Dra. Ana Teresa Pugas de Carvalho
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Coorientador: Prof. Dr. Antonio José de Vasconcellos Carneiro
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Banca Examinadora: _____
Prof.ª Dra. Luciana Silva Rodrigues
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

_____
Prof. Dr. Heitor Siffert Pereira de Souza
Universidade Federal do Rio de Janeiro

_____
Prof. Dr. Gerson Ricardo de Souza Domingues
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Rio de Janeiro
2018

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais Suely e Antonio, que sempre me ensinaram que apesar de todas as dificuldades da vida e de todas as privações, o estudo é sempre o melhor caminho. Aos que me serviram de exemplo pessoal e profissional para que eu pudesse me tornar a pessoa que sou hoje. À minha amada avó Nininha, que no início desse projeto ainda estava ao meu lado me apoiando, mas que apesar de não estar mais fisicamente ao meu lado, estará sempre me incentivando onde quer que ela esteja. Aos meus irmãos Bruno e Yasmin, pela paciência e compreensão pelas minhas ausências.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à minha orientadora e mais do que isso amiga e conselheira Professora Ana Teresa Pugas de Carvalho, que foi essencial na minha formação médica e como pessoa, confiando em mim para dar início a esse projeto. Agradeço por todo o suporte técnico, científico e por toda a disponibilidade em me receber, ajudar e aconselhar para a finalização desse trabalho.

Ao meu coorientador Professor Antonio José de Vasconcellos Carneiro, por ter acreditado em mim e ter me auxiliado em todas as etapas desse projeto, sempre de forma muito carinhosa e harmoniosa, minha eterna admiração e respeito.

Ao Professor, Heitor Siffert Pereira de Souza, pelo trabalho diferenciado na realização das estatísticas e confecção do artigo desse estudo. Agradeço pela paciência e disponibilidade em me explicar cada resultado.

À amiga Dra. Barbara Esberard, amiga pessoal e profissional, por todos os conselhos, os ensinamentos e ajuda durante esse projeto.

Esse estudo não seria possível, não fosse a participação da Professora Luciana Silva Rodrigues e da bióloga Raquel da Silva Corrêa que disponibilizaram o laboratório de patologia e realizaram o IGRA, além da contribuição na elaboração desse projeto.

À Fundação Carlos Chagas filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo suporte financeiro que possibilitou a execução desse projeto.

Ao estatístico Marcelo Ribeiro-Alves pela disponibilização e ajuda na realização dos resultados.

Agradecimentos à enfermeira Kelly dos Santos Silva e ao administrativo Filipe Gomes, exemplos de dedicação à profissão e de respeito ao pacientes.

Aos pacientes do ambulatório de Doenças inflamatórias Intestinais e Gastroenterologia Geral da Policlínica Piquet Carneiro/UERJ por confiarem em mim e aceitarem participar do estudo.

Aos médicos residentes que passaram pela disciplina de Gastroenterologia do HUPE entre os anos de 2015 a 2018 e que contribuíram direta ou indiretamente para esse projeto.

Aos amigos, Paulo Rosado de Castro e Elio Cunha Castro Filho, pela amizade e pela disponibilidade em me ajudar nas dificuldades que encontrei para a elaboração desse projeto.

Aos amigos, Viviane Fittipaldi, Evelyn Chinem, Eduardo Viegas, Alline Pimenta, Alexandre Iachan, Raquel Al-Cici, Patrícia kuhn, pelo apoio durante toda essa jornada com palavras acolhedoras e de incentivo e pela compreensão nas minhas ausências.

À amiga Fernanda Couto pelo companheirismo durante todo esse processo, desde as aulas até o projeto final.

Ao amigo Eduardo Madeira pelo apoio e ajuda durante a minha jornada de trabalho.

Por fim agradeço a Deus, pela vida que me foi concedida temporariamente e por todas as realizações já conquistadas. Aos meus pais e a minha avó, meus exemplos de vida, pela paciência, pelo amor incondicional e pelo incentivo a todos os meus projetos de vida e aos meus irmãos que sempre estiveram ao meu lado. Ao meu afilhado Theo, que mesmo ainda estando dentro da barriga me serviu de estímulo para finalizar essa dissertação.

A maior doença do ocidente não é a tuberculose (...); é sermos indesejados, desamados, desassistidos.

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

AMORIM, Renata Fernandes de. **Comparação entre o interferon-gamma release assay e o teste cutâneo tuberculínico para rastreio de tuberculose latente antes e durante a terapia anti-TNFα em pacientes com doença inflamatória intestinal no Rio de Janeiro, Brasil.** 2018. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Alguns pacientes portadores de doença inflamatória intestinal (DII) necessitam de tratamento com medicamentos anti-TNFα para melhor controle e manutenção da doença. A terapia biológica anti-TNFα aumenta o risco de reativação da tuberculose (TB) e por isso todos os pacientes que farão uso desta medicação devem fazer rastreio para tuberculose latente (ILTB). Hoje no Brasil, os métodos aprovados para este fim, são a radiografia de tórax e o derivado proteico purificado (PT), entretanto devido ao uso prévio de medicamentos imunossupressores e à desnutrição, alguns pacientes apresentam resultados falsos negativos com posterior manifestação clínica da TB. Outro método disponível, o ensaio de produção do interferon gamma (IGRA) mede o interferon gama no sangue periférico dos pacientes, "ex vivo", quando este é exposto aos antígenos específicos da micobactéria da TB. Os objetivos deste estudo foram: (i) avaliar a concordância entre PT e IGRA no rastreio da ILTB nos pacientes virgens de anti-TNFα; (ii) avaliar a necessidade de repetir os testes de rastreio nos pacientes já em uso de anti-TNFα; (iii) avaliar se os testes de rastreio sofrem a influência da imunossupressão. O PT foi realizado por uma enfermeira certificada para realização do método e o IGRA foi realizado na disciplina de Patologia da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro-UERJ. Como resultados, 174 pacientes participaram do estudo sendo 89 portadores de doença de Crohn (DC), 21 portadores de retocolite ulcerativa idiopática (RCUi) e 64 controles. A concordância entre o PT e o IGRA foi baixa em relação ao diagnóstico (kappa: controle = 0,318; UC = 0,202; e CD = -0,093), terapia anti-TNFα (kappa: sem anti-TNFα: -0,1123; com anti-TNFα: 0,150) e uso de imunossupressor (IS) (kappa: sem IS: 0,146; com IS: -0,088). Considerando o IGRA como padrão ouro, o PT mostrou uma sensibilidade geral muito baixa de19,05% e VPP de 21,05%. No entanto, um notável aumento na detecção de ILTB ocorreu quando o IGRA foi adicionado ao PT (sensibilidade de 80,95% e VPP de 53,13%). Pacientes com DC apresentaram menor sensibilidade e VPP (0,0% e 0,0%). Entre esses pacientes, quando o IGRA foi analisado como um teste sequencial adicional ao PT, os resultados notavelmente melhoraram (sensibilidade de 66,67% e VPP de 61,54%). Conclui-se que o IGRA foi mais eficaz para detectar ILTB do que o PT e teve um valor agregado de 60% como um teste sequencial adicional, principalmente nos pacientes com DC. Embora o custo-efetividade dessa estratégia ainda deva ser avaliada, o IGRA parece ser justificado na DC antes e durante a terapia anti-TNFα, em áreas endêmicas para o *Micobacterium tuberculosis* (Mtb), onde o BCG é universalmente aplicado à população.

Palavras-chave: Doença inflamatória intestinal. Tuberculose latente. Derivado proteico purificado. Ensaio de produção interferon gamma.

ABSTRACT

AMORIM, Renata Fernandes de. **Superiority of interferon gamma release assay over tuberculin skin test for screening latent tuberculosis prior to and during anti-TNFα l therapy in patients with inflammatory bowel disease in Rio de Janeiro, Brazil.** 2018. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Some patients with inflammatory bowel disease (IBD) are treated with anti-TNFα for a better control and maintenance of the disease. Anti-TNFα therapy increases the risk of reactivation of tuberculosis and therefore all IBD patients require screening for latent tuberculosis (LTBI) before therapy. In Brazil, the screening methods for LTBI are chest X-ray and tuberculin skin test (TST). However, TST could have false negative results, mainly in patients with immunosuppression therapy, who have a high chance of developing tuberculosis. Another available method, interferon gamma release assay (IGRA), measures ex vivo the peripheral blood gamma interferon of patients when they are exposed to tuberculosis mycobacterium-specific antigens. The objective of this study was: (i) to evaluate the agreement between PT and IGRA in the screening of LTBI in naïve patients; (ii) to evaluate the need to repeat screening tests after the beginning of anti-TNF therapy; (iii) to evaluate whether screening tests are influenced by immunosuppression. TST was performed by a certified nurse and IGRA was performed in the pathology sector of the Faculty of Medical Sciences (FMS) of the University of the State of Rio de Janeiro-UERJ. As a result, 89 patients with Crohn's disease (CD), 21 patients with idiopathic ulcerative colitis (UC) and 64 controls participated in the study. The agreement between TST and IGRA was poor regarding diagnosis (kappa: control=0.318; UC=0.202; and CD=-0.093), anti-TNFα therapy (kappa: w/o anti-TNFα: -0.123; with anti-TNFα: 0.150), and the use of immunosuppressant (IS) (kappa: w/o IS: 0.146; with IS: -0.088). Considering IGRA as criterion Standard, TST showed a very low overall sensitivity of 19.05% and a PPV of 21.05%. However, a remarkable relative increase in the detection of LTBI occurred when IGRA was added to TST (sensitivity of 80.95% and a PPV of 53.13%). Although TST does not appear to be significantly affected by the use of immunosuppressant or other clinical variables, patients with CD showed the lowest sensitivity and a PPV of 0.0% and 0.0%. Among these patients, when IGRA was analyzed as an add-on sequential test to TST, results remarkably improved (sensitivity of 66.67% and a PPV of 61.54%). IGRA alone was more effective to detect LTBI than TST alone which had an added value of ~60% as an add-on sequential test, particularly important in CD patients. Although the cost-effectiveness of these strategies remains to be evaluated, IGRA appears to be justified in CD prior to and during anti-TNFα therapy, in endemic areas for Mtb where BCG is universally applied to the population.

Keywords: Inflammatory bowel disease. Latent tuberculosis. Tuberculin skin test. Interferon gamma release assay.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma de ILTB, segundo o PNCT 18
Figura 2 - Método de aplicação do PT 33
Figura 3 - Método de leitura do PT 33
Figura 4 - Fluxograma de interpretação dos resultados quando os tubos de Nil, Antígeno e Mitógeno são utilizados 36
Figura 5 - Fluxograma de inclusão dos pacientes 37
Gráfico 1 - Fenótipo da DC segundo a classificação de Montreal (70) 38
Gráfico 2 - Extensão da DC segundo a classificação de Montreal (70) 38
Gráfico 3 - Extensão da RCUi segundo a classificação de Montreal (70) 39
Gráfico 4 - Taxa de positividade do PT isolado 41
Gráfico 5 - Taxa de positividade do PT isolado na DII 42
Gráfico 6 - Taxa de positividade do IGRA e do PT 43
Gráfico 7 - Taxa de positividade do IGRA e do PT na DII 43
Gráfico 8 - Taxa de positividade dos pacientes que fizeram pelo menos um dos testes 44
Gráfico 9 - Taxa de positividade dos pacientes que fizeram pelo menos um dos testes na DII 45
Gráfico 10 - Taxas de positividade dos métodos 46
Figura 6 - Fluxograma dos pacientes após início da terapia biológica 48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Efetividade e custo total (em dólar) do rastreio e tratamento de um coorte hipotética de 1000 adultos contactantes imunocompetentes no Brazil, 2010 27
Tabela 2 - Características demográficas dos pacientes 40
Tabela 3 - Resultados do IGRA e PT 46
Tabela 4 - Performance do PT isolado, considerando o IGRA como padrão ouro 47
Tabela 5 - Performance do IGRA + PT, considerando IGRA como padrão ouro 47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BCG	*Bacillus Calmette Guérin*
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CEP	Comitê de ética em Pesquisa
CFP	*Culture Filtrate Protein*
Cols	Colaboradores
DC	Doença de Crohn
DII	Doença inflamatória intestinal
DO	Densidade óptica
DP	Desvio padrão
ECCO	*European Crohn's and Colitis Organisation*
ELISA	*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*
ELISPOT	*Enzyme Linked Immunosorbent Spot*
ESAT-6	*Early Secretory Antigenic Target 6*
EUA	Estados Unidos da América
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
FDA	*Food and Drug Administration*
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
ILTB	Infeccção latente pelo *Mycobacterium tuberculosis*
INEC	Instituto Nacional de Saúde e Excelência em Cuidados
IL	Interleucina
IFN**γ**	Interferon gamma
IGRA	*Interferon gamma release assay*
IC	Intervalo de confiança
K	*Kappa*
Mtb	*Micobacterium tuberculosis*
OMS	Organização Mundial de Saúde
P	Significância estatística
PCR	Proteína C reativa
PNCT	Programa Nacional de Controle da Tuberculose
PT	Prova tuberculínica
PPC	Policlínica Piquet Carneiro

QTF	QuantiFERON
QTF-G	*QuantiFERON TB-Gold*
QTF-GIT	*QuantiFERON TB-Gold In-Tube*
RCUi	Retocolite ulcerativa idiopática
RIPE	Rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
TB	Tuberculose
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TNFα	Fator de necrose tumoral alfa
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
VHS	Velocidade de hemossedimentação
VPP	Valor preditivo positivo
VPN	Valor positivo negativo

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
α	Alfa
γ	Gama
ml	Mililitro
mm	Milímetro
h	Hora
mg	Miligrama
UI	Unidades internacionais
°C	Graus Celsius
CO2	Dióxido de carbono
x	Multiplicação
µl	Microlitro
nm	Nanómetros
min	Minutos
±	Mais ou menos
<	Menor
≥	Maior ou igual

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	16
1	**REVISÃO LITERATURA**	17
1.1	**Tuberculose ativa e latente no Brasil**	17
1.2	**Doenças inflamatórias intestinais**	19
1.3	**Tuberculose latente na DII e terapia biológica anti-TNFα**	21
1.4	**Derivado proteico purificado - PT**	23
1.5	**Ensaio de produção de interferon gamma - IGRA**	24
1.6	**Associação PT e IGRA**	25
1.7	**Estudos comparativos - IGRA x PT**	26
2	**OBJETIVOS**	29
2.1	**Objetivos primários**	29
2.2	**Objetivos secundários**	29
3	**PACIENTES E MÉTODOS**	30
3.1	**Desenho do estudo**	30
3.2	**Casuística**	30
3.2.1	Critérios de inclusão	30
3.2.2	Critérios de exclusão	31
3.3	**Métodos**	31
3.3.1	Características dos pacientes incluídos	31
3.3.2	Técnica de rastreio de ILTB	32
3.3.2.1	Realização do PT	32
3.3.2.2	Realização do IGRA	33
3.4	**Análise estatística**	36
4	**RESULTADOS**	38
4.1	**Caracterização e análise descritiva da amostra**	37
4.2	**Resultados do PT isolado**	41
4.3	**Resultados do IGRA isolado**	42
4.4	**Associação dos métodos - IGRA e/ou PT**	44
4.5	**Concordância dos métodos - IGRA e PT**	45
4.6	**Avaliação dos métodos**	47

4.7 **Avaliação dos pacientes após início de terapia biológica** 48
5 **DISCUSSÃO** 50
CONCLUSÃO 55
REFERÊNCIAS 56
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) 61
APÊNDICE B - Ficha de identificação, dados clínicos e laboratoriais 65
ANEXO A - Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) 66
ANEXO B - Classificação de Montreal para DC e RCUi 69

INTRODUÇÃO

A TB é uma doença infecciosa e em alguns casos contagiosa causada pelo bacilo Mtb. Na maioria dos pacientes, o contato com o bacilo da TB ativa o sistema imune do hospedeiro levando à inativação do bacilo e contensão do mesmo dentro de um granuloma. A formação e manutenção desse granuloma está diretamente ligada a uma citocina pró-inflamatória, o TNFα. Este fenômeno é conhecido como ILTB, não tendo expressão clínica da doença (1, 2).

Na DII, representadas nesse estudo como DC e RCUi, ocorre um predomínio de células pró-inflamatórias, sendo uma das suas principais vias, a do TNFα. Portanto, alguns pacientes com DII na maioria das vezes já em uso de imunossupressores, são candidatos à terapia anti-TNFα e dessa forma, tem um risco aumentado de desenvolver TB ativa (1, 3).

No Brasil, recomenda-se, que todos os pacientes com DII que farão uso da terapia anti-TNFα sejam submetidos a rastreio de ILTB, com história clínica, exame físico, radiografia de tórax e prova tuberculínica (PT).

O PT é o método de rastreio de escolha por ser barato, simples e que quando positivo evita a evolução para TB ativa em 60% dos pacientes com ILTB, que são submetidos à quimioprofilaxia com isoniazida. Entretanto, tem sido questionado se seria este o melhor método de rastreio de ILTB em pacientes com DII. Na prática clínica, observa-se que alguns pacientes apresentam radiografia de tórax e PT negativos, entretanto após início da terapia anti-TNFα, esses pacientes desenvolvem TB ativa. Nesse contexto, surge o questionamento se esses pacientes foram infectados após inicio da terapia biológica ou se os resultados do PT foram falso negativos.

Partindo-se dessa premissa, existe um outro método alternativo para rastreio de ILTB, o IGRA, que é mais específico para o diagnóstico de infecção pelo Mtb e que não sofre influência da vacinação com BCG. Portanto, faz-se necessário estudar qual o melhor rastreio para ILTB na população de DII em um país endêmico para TB como o nosso e onde toda a população é vacinada para BCG ao nascimento.

1 **REVISÃO LITERATURA**

1.1 **Tuberculose ativa e latente no Brasil**

A TB é a nona maior causa de morte no mundo (4) e segundo dados divulgados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) de 2016, o Brasil está entre os 30 países com maior número de casos de TB no mundo. Brasil junto com a Rússia, Índia, China e África do Sul compõem 50 % dos casos e formam o BRICS, uma rede formada na luta contra TB (4). Em 2016, foram registrados 82.676 casos novos da doença no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). A taxa de incidência foi de 42 casos para 100 mil habitantes em paciente HIV negativos e de 13/100.000 para os HIV positivos com taxa de mortalidade de 2,6 para 100.000 habitantes em HIV negativos e 0,9/100.000 para os HIV positivos (OMS) (5). Além disso, neste mesmo ano foram notificados 8144 casos de TB entre profissionais de saúde de 60 países e o Brasil apresentava 13% desses casos (4). Em 2015, foram cumpridas às metas de reduzir pela metade a incidência, prevalência e mortalidade por TB comparada com 1990 traçadas pela OMS, entretanto, há ainda um longo caminho a ser percorrido.

A TB é transmitida por via aérea em praticamente todos os casos. A infecção ocorre a partir da inalação de núcleos secos de partículas contendo bacilos expelidos pela tosse, fala ou espirro do doente com tuberculose ativa de vias respiratórias (pulmonar ou laríngea) (6). É uma doença mais comum no sexo masculino, em adulto jovem, com a forma pulmonar sendo a localização mais frequente, ocorrendo em 87% dos casos (4). Desses, 60 % são bacilíferos (baciloscopia no escarro positiva) e, portanto a busca desses doentes faz-se necessária para interromper a cadeia de transmissão da TB (6). Esta doença é curável em praticamente 100 % dos casos sensíveis ao tratamento com rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol (RIPE), entretanto, em 2016 a taxa de sucesso do tratamento foi de apenas 71%, ocorrendo 21% de falha por abandono do tratamento ou perda das notificações sobre o mesmo (4). Além de ser um problema de saúde pública, os custos com a doença são elevados, sendo de 67 milhões em 2016 (4).

Dessa forma, todos os contatos de pacientes com TB ativa devem ser investigados na busca por novos casos índices e no rastreio pela ILTB. Acredita-se, que aproximadamente 1/3 da população imunocompetente apresente ILTB pelo Mtb. A maioria das pessoas não adoecem após a primoinfecção e desenvolvem imunidade parcial à doença. Entretanto, 5%

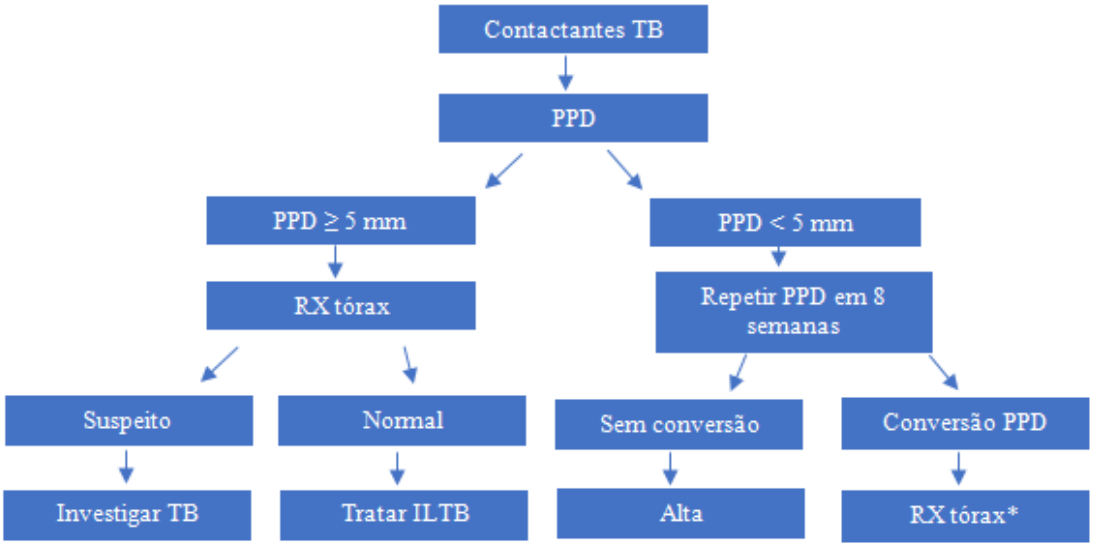
das pessoas não conseguem impedir a multiplicação dos bacilos e desenvolvem doença ativa na sequência da primoinfecção (6). Outros 10%, vão desenvolver infecção ativa ao longo da vida (7-9) sendo o risco maior nos primeiros 2 anos após o contato (10). Não é possível precisar quem ou quando esses pacientes irão desenvolver a doença (11) mas o que é sabido é que a imunossupressão é o maior fator de risco para evolução para TB ativa (8, 12).

Ao inalar partículas do bacilo da TB, o sistema imune inato é ativado e macrófagos e células dendríticas fagocitam esses bacilos levando a produção de citocinas pró inflamatórias como TNFα e interleucinas (ILs). Essas células dendríticas migram para os nódulos linfáticos, onde apresentam os antígenos do Mtb e assim ativam principalmente linfócitos Th1 CD4+. Esses, por sua vez alcançam a corrente sanguínea e levam a produção de IFNγ que estimulam o recrutamento de macrófagos, linfócitos e TNFα para os sítios de infecção, levando a formação do granuloma.

Segundo a OMS, para se definir quem são os pacientes que devem ser rastreados para ILTB leva-se em consideração os grupos de riscos, a taxa de incidência do país, a disponibilidade de recursos e o impacto que essa medida tem na saúde pública (13). Pacientes com contato com TB ativa, assim como aqueles que farão uso de terapia anti- TNFα, antes de transplante de órgão ou hematológico, pacientes que dialisam e portadores de silicose devem ser submetidos ao rastreio para ILTB.

Para o diagnóstico dos pacientes com ILTB o programa nacional de controle a tuberculose (PCNT) (14) recomenda para contactantes de TB, o fluxograma abaixo (Figura 1).

Figura 1 - Fluxograma de ILTB, segundo o PNCT



* segue o mesmo fluxo para o RX tórax com PT ≥ 5 mm
Fonte: Saúde Md, 2011(6).

Quando o rastreio é positivo, o tratamento é feito com isoniazida na dose de 5 a 10 mg/kg de peso, sendo a dose máxima de 300 mg/dia em dose única por 6 meses, podendo a quimioprofilaxia ser estendida para 9 meses em casos especiais como pacientes HIV/AIDS (15). O tratamento da ILTB com isoniazida reduz em 60% a 90% o risco de adoecimento e esta variação depende da duração e do grau de adesão ao tratamento (16).

1.2 **Doenças inflamatórias intestinais**

A DII é uma doença crônica que afeta todo o trato gastrointestinal para a DC e exclusivamente o cólon para a RCU. Alguns pacientes podem experimentar manifestações extraintestinais, sendo as mais comuns as articulares. Na DII ocorre um desequilíbrio entre citocinas pró-inflamatórias em relação às antiinflamatórias, levando ao aumento e à perpetuação do processo inflamatório intestinal. A imunidade inata da mucosa intestinal à microbiota é um evento central na patogênese da DII com aumento do número de macrófagos e células dendríticas e produção de inúmeras citocinas pró-inflamatórias como IL-1 alfa, IL-1 beta e TNFα (17). Na DC, os linfócitos T CD4+ ativados da mucosa intestinal geram uma resposta predominantemente Th1, com produção de interferon gama, IL-12, ativação de macrófagos e amplificação da produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-2, IL-

17 e o TNFα. Por outro lado, na RCUi a resposta é tipicamente Th2, com produção aumentada de IL-5 e IL-13 (18).

O diagnóstico da doença se baseia na história clínica do paciente, exame físico, achados endoscópicos, radiológicos, histológicos e laboratoriais. Exames sorológicos e genéticos não são utilizados para diagnóstico (19). As manifestações clínicas mais comuns da DII incluem diarreia crônica, dor abdominal, perda de peso e enterorragia, esse último principalmente na RCUi. Além de sintomas sistêmicos como anorexia, mialgia e febre (20, 21). À colonoscopia, a DC se manifesta com a presença de úlceras longitudinais por vezes profundas salteadas por áreas de mucosa normal, o reto pode estar acometido em alguns casos e áreas de estenoses e fístulas também podem ser visualizadas. Já a RCUi apresenta o acometimento do reto como regra e um padrão continuo de acometimento da mucosa com erosões e úlceras mais superficiais. Radiologicamente, através de enterotomografia ou enteroressonância nuclear magnética, os pacientes com DC podem apresentar acometimento de qualquer parte do intestino delgado com apresentação semelhante à descrita para o cólon enquanto os doentes com RCUi não tem acometimento do delgado exceto pela ileíte de refluxo. Outra alternativa de exame disponível para avaliação do intestino delgado é a cápsula endoscópica, sendo que esta não deve ser utilizada nos pacientes com suspeita de estenose. À histologia observam-se achados de inflamação do cólon não específicos de DII, com aumento de células inflamatórias como linfócitos e plasmócitos, alteração da arquitetura das criptas e em alguns casos de DC, o granuloma não caseoso (20, 21). Laboratorialmente, os pacientes podem se apresentar com anemia, aumento das plaquetas, além de marcadores sérios inflamatórios elevados, como velocidade de hemossedimentação (VHS) e proteína C reativa (PCR). Calprotectina fecal é um marcador de inflamação intestinal, não específico para DII, mas que ajuda no diagnóstico diferencial entre síndrome do intestino irritável e DII (19).

A DC pode ser dividida segundo a classificação de Montreal (22), de acordo com a idade de início dos sintomas, sendo idade < 40 anos um dos fatores de pior prognóstico, de acordo com o comportamento da doença em estenosante, penetrante e não estenosante e não penetrante, sendo essa última a apresentação mais comum. Estes doentes podem ter ainda doença perianal associada, que ocorre em 25% dos pacientes (19). De acordo com a extensão, em acometimento somente do trato gastrointestinal superior, ileal, colônica ou ileocolônica, sendo essa última a mais comum. Já a RCUi é classificada segundo a sua extensão em proctite, colite esquerda ou pancolite, sendo a colite esquerda a mais comum.

O tratamento da DII depende de múltiplos fatores, como à forma de apresentação inicial da doença, idade de início, extensão de acometimento e comportamento da doença no

caso da DC. O tratamento compreende duas etapas, a indução da remissão da doença e a manutenção da remissão. Para as formas leves a moderada da RCUi utiliza-se os salicilatos orais e/ou tópicos para alcançar e manter a remissão da doença. Quando os pacientes não respondem a essa primeira linha de tratamento e necessitam de corticoides, imunomoduladores como a azatioprina são adicionados ao tratamento. Já nas formas graves da doença ou não responsivas ou mesmo dependentes dos corticoides, a terapia biológica deve ser considerada (23). Os pacientes com DC não alcançam a remissão da doença somente com os salicilatos e imunomoduladores, sendo necessário corticoterapia no início do tratamento. Na DC com atividade leve a moderada utiliza-se o tratamento com salicilatos orais e imunomodulares para a manutenção da remissão. Entretanto, os pacientes não responsivos ou dependentes dos corticoides assim como aqueles que apresentam doença extensa, doença perianal importante, apresentação da doença de forma grave, fenótipo penetrante, além de alguns pacientes com alto risco de recorrência pós operatória, são candidatos à terapia biológica. A terapia biológica compreende medicamentos anti-TNFα, como o infliximabe, adalimumabe e certolizumabe pegol, anti-integrina como vedolizumabe e anticitocina como o ustequinumabe (20, 24).

Além disso, alguns pacientes com DII apresentam quadro clínico inicial de forma muito grave necessitando de terapia imunobiológica como tratamento de primeira escolha, conceito esse conhecido como terapia *top-down*.

Os medicamentos anti-TNFα aprovados para o tratamento das DII no Brasil atualmente são o infliximabe, adalimumabe e certolizumabe pegol, sendo esse último pouco utilizado. Esses medicamentos são administrados por via parenteral, endovenosa para o infliximabe e subcutânea para o adalimumabe e certolizumabe. Após as doses de indução, são mantidos por tempo indeterminado, havendo a indicação de modificação do esquema terapêutico ou mesmo de suspensão da droga nos casos de perda de resposta, surgimento de efeitos colaterais, ou de doenças infecciosas ou neoplásicas.

O tratamento cirúrgico fica reservado aos pacientes com DII complicada com abscesso, perfuração, hemorragia intratável, obstruções recorrentes e câncer. Além daqueles pacientes que forem refratários ao tratamento clínico (19, 23).

1.3 **Tuberculose latente na DII e terapia biológica anti-TNFα**

O TNFα e seus receptores são importantes reguladores da ativação da imunidade, proliferação, diferenciação, sobrevivência e apoptose das células (25). O TNFα aumenta a capacidade fagocítica dos macrófagos, aumentando a morte bacteriana pela geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (26). Além disso, essa citocina é responsável pela estimulação de quimiocinas dos macrófagos e linfócitos T, levando ao acúmulo de células imune no sítio da infecção. Esse fenômeno é o que ocorre quando o indivíduo imunocompetente entra em contato com o bacilo de Koch (TB) ficando o mesmo quiescente dentro do granuloma, sem que haja evolução para doença ativa. Portanto, o TNFα é uma ferramenta chave na formação e na manutenção da integridade do granuloma (27). Dessa forma, os fármacos com ação anti-TNFα levam a desorganização e à perda da integridade do granuloma levando a um maior risco de ativação do bacilo e desenvolvimento de TB clínica. Por isso, todos os pacientes que farão uso de anti-TNFα necessitam de um adequado rastreamento na busca da ILTB (28).

A terapia anti-TNFα aumenta em 1,6-25 vezes o risco de reativação da micobactéria da TB, na dependência do tipo de anti-TNFα (29) e da condição clínica do paciente. Alguns estudos mostram que o etanercept (outro imunobiológico muito utilizado na reumatologia) tem menor risco de TB quando comparado aos demais anti-TNFα (3, 29-31).

O tempo de reativação da TB após início da terapia biológica com anti-TNFα é em média de 3-6 meses para o infliximabe e 8-16 meses para o adalimumabe (32). Esse risco é ainda maior quando o anti-TNFα está associado ao uso da azatioprina e metotrexate ou quando a infecção latente é recente (1, 33). A apresentação da doença pode ser variável, dependendo da linhagem filogenética do Mtb e da condição clínica do paciente (34).

Os métodos recomendados hoje no Brasil para a detecção da infecção latente se baseiam na história clínica (sintomas ou contato recente com pessoas com diagnóstico de TB), radiografia de tórax e no derivado proteico purificado (PT) (6). Esse rastreio atual ainda deixa dúvidas sobre a sua eficácia e segurança nos pacientes com DII. Alguns pacientes com radiografia de tórax normal e PT negativo antes de iniciar a terapia biológica, desenvolvem a doença ativa apesar do rastreio, que toma como base *guidelines* de países com baixa prevalência de TB, como os Estados Unidos e países da Europa.

Faz-se necessário estudar qual o melhor forma de se diagnosticar a ILTB no nosso país em pacientes portadores de DII que na sua maioria são imunossuprimidos pelos medicamentos em uso. Nesse grupo de pacientes, o PT pode dar resultados falso negativos.

Por outro lado, resultados falsos positivos podem ser encontrados nos pacientes previamente vacinados com o BCG (7). O IGRA, que não sofre interferência nos seus resultados com a vacina BCG, mostra-se no nosso meio, um teste mais oneroso que o PT (35).

Estudos que possam determinar o melhor custo-benefício para o rastreio da ILTB em pacientes com DII antes da terapia biológica são importantes já que ainda não está definida a melhor estratégia a ser adotada nestes casos.

Além dos resultados conflitantes entre os estudos em relação a qual o melhor método para o diagnóstico da ILTB não há ainda dados que comprovem se há necessidade ou não de retestagem para ILTB após a terapia biológica, assim como não há consenso de qual seria o melhor método para retestagem, IGRA e ou PT (36). Outro dado relevante é que a capacidade desses métodos predizerem quem vai desenvolver doença ativa é muita baixa. Uma meta análise demonstrou que o valor preditivo positivo (VPP) para TB ativa foi de 2.7% para o IGRA (95% IC, 2.3 a 3.2) e 1.5% para PT (95% IC, 1.2 a 1.7) (37). Após o início do anti-TNFα, os pacientes podem estar mais expostos ao bacilo ou podem deixar de ser falso negativos, principalmente após a interrupção de algumas drogas imunossupressoras como os corticosteroides. Recomenda-se retestagem para os pacientes que moram em áreas de baixa prevalência de TB em uso de terapia biológica anti-TNFα que façam viagem para áreas de alta prevalência (38).

1.4 **Prova tuberculínica - PT**

O PT é um derivado proteico purificado, composto por mais de 200 proteínas presentes no Mtb, mas que também está presente em outras micobactéricas, dentre elas *Mycobacterium bovis Bacillus Calmette Guérin (BCG)* e outras micobactérias não *tuberculosis* (39).

O método consiste na injeção intradérmica de 0,1 ml do derivado proteico purificado na região ventral do antebraço. Esse derivado proteico vai gerar uma resposta de hipersensibilidade tardia que é mensurada pela medida em milímetros da área endurada na pele após 48-72h de inoculação (39). Essa resposta tardia é caracterizada por uma migração bifásica das células. A produção de citocinas pró-inflamatórias com aumento da permeabilidade local leva inicialmente ao aumento de neutrófilos não específicos e em seguida ao acúmulo de células CD4.

O resultado deste teste consiste na medida do maior diâmetro em milímetros da área endurada, avaliada com uma régua milimetrada. Resultados positivos são maiores ou iguais a 5 mm e resultados negativos são menores do que 5 mm. O teste apresenta muitas limitações, dentre elas uma baixa especificidade em pacientes vacinados com BCG ou infectados com micobactérias não *tuberculosis* (40-42). A baixa especificidade associada à vacinação se deve ao fato do PT conter à micobactéria presente na BCG e dessa forma, podem ocorrer resultados falso positivos, já que o paciente teria um PT positivo não por exposição à micobactéria da TB, mas à da BCG (43-45). Entretanto, acredita-se que essa associação seja menor ou até mesmo não exista quando a vacinação ocorreu há mais de 10 anos. Além disso, esses resultados falso positivos diminuem o custo efetividade do método ao submeter um maior número de pacientes ao tratamento com isoniazida (46, 47) e a maiores efeitos colaterais (48). Como esse método é “in vivo” os pacientes com resultados positivos permanecem por toda a vida com esse resultado, não sendo este um método capaz de definir tempo de exposição ao bacilo ou a diferenciação entre ILTB ou ativa (49). Outra limitação do método é sua baixa sensibilidade na população imunossuprimida por doença (50), por medicamentos e por desnutrição (51). Um estudo prospectivo multicêntrico, realizado na Espanha comparou a sensibilidade do PT no rastreio de ILTB nos pacientes com DII antes da terapia biológica e nos controles que eram pacientes com DII com 50% da amostra sem imunossupressor. Este estudo demonstrou que a sensibilidade é mais baixa com o grupo que vai iniciar terapia biológica devido ao maior número de pacientes em uso de imunossupressores. Uma taxa de positividade do PT de 11,5% para o grupo que irá iniciar terapia biológica e 22,8 % para o grupo controle, demonstrando portanto que a sensibilidade desse método é limitada nos pacientes com DII em uso de imunossupressor (50).

Outra desvantagem do método do PT é a necessidade de uma segunda visita para que haja a leitura do exame. Essa ainda pode apresentar variabilidade interpessoal, dada à subjetividade na mensuração (39, 52). Apesar dessas desvantagens, ele é método disponível mais utilizado no nosso meio por ser barato, por não necessitar de alta tecnologia para sua realização e por ser capaz de reduzir o risco de ativação da doença em 60 % dos pacientes com infecção latente que fazem quimioprofilaxia (15).

1.5 **Ensaio de produção de interferon gamma - IGRA**

O IGRA (*interferon gamma release assay*) é um outro método para o diagnóstico de ILTB, baseado na dosagem do interferon gama nos linfócitos T do sangue periférico, após a exposição in vitro por antígenos específicos do genoma do *Mycobacterium tuberculosis*, que são eles CFP-10, ESAT-6 e TB-7,7. O sistema IGRA para detecção de ILTB pode ser medido de duas formas, pelo método de ELISA, que é QuantiFERON (QTF) e pelo método de ELISPOT, que é T-SPOT. TB. O método QuantiFERON pode ser ainda de duas gerações, QuantiFERON TB-Gold (QTF-G), neste caso, os antígenos utilizados são CFP-10 e ESAT-6 e o QuantiFERON TB-Gold In-Tube (QTF-GIT) que utiliza os dois antígenos anteriores e mais um terceiro antígeno TB 7,7. Devido a sua especificidade com a micobactéria *tuberculosis*, ele não sofre a influência da vacina BCG (53) e da maioria das outras micobactérias (54). Entretanto, existe um estudo que demonstrou resultados falso positivos em pacientes infectados por *Mycobacterium leprae* (55). Estudo realizado no Japão avaliou a especificidade do método em uma população com 1000 imunocompetentes e demonstrou um especificidade de 98,8% e sensibilidade de 92,6% para QuantiFERON TB-Gold In-Tube no rastreio de ILTB (56). Sua especificidade aumentada o torna um método promissor em países endêmicos, com alta prevalência de vacinação pela BCG como o Brasil.

O método apresenta outras vantagens além da especificidade como não ser um método operador dependente, apresentar resultado em 24h da sua coleta e por ser um método “ex-vivo” (a reação ocorre em um tubo de ensaio), ele pode ser repetido sem que haja sensibilização ou booster (aumento da resposta imune pela exposição prévia ao antígeno). Além disso, tem ainda à capacidade de discriminar o verdadeiro negativo do anérgico por apresentar controle positivo.

Uma das limitações do método é a taxa de resultados indeterminados que variam de 3-15% da população devido, em sua maioria ao uso imunomoduladores (57). Essa variação ocorre principalmente conforme o tipo de imunossupressão, sendo o uso de corticóide na dose maior que 15 mg/dia o principal fator associado as maiores taxas (58). Acredita-se que os corticosteroides induzam a linfopenia ou ao prejuízo funcional das células T ou das células apresentadoras de antígeno, levando ao aumento de resultados indeterminados (59). Outros fatores que influenciam nos resultados indeterminados são a hipoalbuminemia, linfopenia por outras causas que não ao corticoide e a atividade da doença (57, 60, 61).

Acredita-se que o IGRA tenha mais resultados verdadeiramente positivos quando comparado com o PT na população imunossuprimida (62) devido ao primeiro gerar uma rápida produção de interferon enquanto o PT gera uma resposta mais lenta (63).

1.6 **Associação PT e IGRA**

Nos EUA, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, Atlanta) recomenda que o IGRA possa ser utilizado ao invés do PT para todas as indicações (64) enquanto no Reino Unido, o Instituto Nacional de Saúde e Excelência em Cuidados (INEC) e os *guidelines* Italianos recomendam para todos os pacientes que farão uso de terapia anti-TNFα, duas etapas de rastreio, inicialmente os pacientes fariam PT e sendo este positivo, o resultado deveria ser confirmado com IGRA (65). Dessa forma, surge o questionamento se os resultados do IGRA podem ser influenciados pela realização prévia do PT.

Sauzullo e cols. (2011) (30) realizaram um estudo prospectivo na Itália, país com prevalência intermediária de TB, para avaliar se o PT influenciava os resultados do IGRA. O estudo foi realizado com 102 trabalhadores imunocompetentes, que foram submetidos ao exame do IGRA seguido de PT no mesmo dia e depois foi feita nova avaliação do IGRA, 1 semana após o PT, 2 semanas após PT, 4 semanas após o PT e 6 semanas após PT. Foi demonstrado uma taxa de concordância dos métodos 67,6% e que o IGRA não sofre a influência do PT nos pacientes com PT negativo, podendo ocorrer uma aumento de resposta imunológica nos resultados do IGRA nos pacientes com ILTB (PT positivo), mas com primeira dosagem do IGRA negativo.

1.7 **Estudos comparativos - IGRA x PT**

Alguns estudos demonstram que apesar do custo do exame do PT ser menor que o IGRA, os custos finais com quimioprofilaxia, eventos adversos, internação e morte por TB são maiores com o PT em comparação com o IGRA (46, 47, 66). Greveson e cols. (2012) (66), compararam o custo efetividade dos dois métodos, PT e IGRA, em 125 pacientes com DII, sendo 90 pacientes virgens de tratamento e 35 pacientes em uso de terapia anti-TNFα e demonstraram que apesar do IGRA ter um custo como método superior ao PT, a estratégia de utilizar o IGRA como método de rastreio é menos custoso, com uma redução de 10,79 libras

por pessoa. Essa análise pode ser justificada pelo maior número de resultados falsos positivos associados ao PT e consequentemente aos custos com quimioprofilaxia e eventos adversos.

Outro estudo que avaliou custo-efetividade entre os métodos demonstrou resultados a favor do PT, entretanto o grupo de pacientes estudado era diferente. Steffen e cols. (2013) (48) realizaram um estudo no Rio de Janeiro, comparando o custo efetividade do PT isolado, PT seguido do IGRA quando o primeiro é positivo e IGRA isolado, na detecção de ILTB na população adulta imunocompetente. Conforme descrito na tabela abaixo, o estudo demonstrou que o PT isolado foi mais custo efetivo que as demais estratégias.

Tabela 1 - Efetividade e custo total (em dólar) do rastreio e tratamento de um coorte hipotética de 1000 adultos contactantes imunocompetentes no Brazil, 2010

Efetividade	**PT**	**IGRA**	**IGRA+PT**
No casos de TB evitados*	6.56	6.63	4.59
No de pessoas com isoniazida	482.4	277.5	181.8
No pessoas tratadas para ILTB para evitar 1 caso de TB	73.5	41.9	39.5
Custo (dólar) por 1000 pacientes:			
Custo diagnóstico	38,544	74,968	62,029
Custo tratamento da ILTB	45,346	26,085	17,087
Custo com hepatotoxicidade	529.4	304.6	198.9
Custo tratamento TB	21,206	20,001	22,832
Custo total	105,096	121,054	101,948
Custo médio por cada paciente	16,021	18,259	22,211

*considerando que nenhuma intervenção resulta em 21 casos de Tb por 1.000 contactantes
1 dolár:1,76 reais
Fonte: Steffen e cols, 2013 (48).

A maior parte dos estudos que comparam ambos os métodos, PT e IGRA para ILTB foram realizados em locais de baixa prevalência de TB, com número pequeno de casos em população imunossuprimida e em geral em doença reumatológica (7, 51, 67, 68). Há poucos estudos com pacientes portadores de DII com indicação para tratamento com anti-TNFα (36, 51).

Além disso, os trabalhos que comparam IGRA com PT são muito conflitantes nos seus resultados. Hatemi e cols. (2012) (67) fizeram um estudo na Turquia, país com baixa prevalência de TB, em 210 pacientes com artrite reumatoide em uso de imunossupressores e demonstrou que a terapia anti-TNFα não influenciou os resultados do IGRA e que resultados discordantes (29% dos casos), ocorreram nos pacientes vacinados para BCG (PT positivo e

QTF negativo) e nos pacientes com baixos níveis de interferon gama (PT positivo e QTF negativo).

Em outro estudo, Andrisani e cols. (2013) (51) compararam prospectivamente PT e IGRA para ILTB em 92 pacientes na Itália (apenas 1 vacinado para BCG e 76% eram imunossuprimidos), portadores de DII e demonstraram taxa de discordância de 14,3% entre os testes nos pacientes em uso de imunossupressores com concordância de 100% nos pacientes imunocompetentes.

Shahidi e cols. (2012) (69) realizaram uma meta análise de 09 estudos comparando IGRA e PT na população portadora de DII e demonstraram taxa de concordância de 85% (95% IC 77% - 90%). Entretanto quando a concordância foi estratificada para imunossupressão, observaram-se diferentes resultados. Isso foi explicado pela discrepância do estado vacinal para BCG entre os estudos na população imunossuprimida. A introdução da imunossupressão reduz a positividade de ambos os testes, principalmente do PT, aumentando a concordância entre eles.

Bartalesi e cols. (2009) (7) realizaram um estudo com 398 pacientes portadores de doença reumatológica na Itália (baixa prevalência de vacinação) e demonstraram taxas de concordância de 87,8% (K 0,55 $p < 0.0001$), taxa de discordância de 8,9% (95% IC 6,3 - 12,2) para PT positivo e IGRA negativo e 3,3% (95% IC 1,8 - 5,6) para PT negativo e IGRA positivo. Vacinação com BCG e terapia anti-TNFα, foram as principais causas para essas divergências, respectivamente.

No Brasil, país de alta prevalência para TB e onde todas as pessoas são vacinadas para BCG ao nascer, o presente estudo é o primeiro a comparar os dois métodos diagnósticos para ILTB, PT e IGRA, em pacientes com DII que irão iniciar terapia biológica. Além disso, existe a necessidade de saber se após inicio da terapia anti-TNFα e com rastreio inicial negativo, deve-se investigar rotineiramente a presença de ILTB.

2 **OBJETIVOS**

2.1 **Objetivos primários**

Comparar os exames de PT e do IGRA no rastreio da ILTB em pacientes com DII antes de iniciar a terapia biológica anti-TNFα.

2.2 **Objetivos secundários**

a) Correlacionar a imunossupressão com os resultados de PT e IGRA;
b) Avaliar o comportamento evolutivo dos exames do PT e do IGRA em pacientes com DII submetidos à terapia biológica anti-TNFα em até um ano de tratamento;
c) Comparar os exames do PT e do IGRA nos portadores de DII já em uso de biológico há mais de um ano.

3 **PACIENTES E MÉTODOS**

3.1 **Desenho do estudo**

Estudo transversal com inclusão prospectiva de pacientes com DII virgens de tratamento com anti-TNFα e em uso desta medicação há mais de um ano.

3.2 **Casuística**

O estudo foi realizado no ambulatório de doenças inflamatórias intestinais da Policlínica Piquet Carneiro (PPC-UERJ), com a presença do pesquisador. Foram incluídos pacientes com DII com indicação de terapia anti-TNFα ou já em uso de anti-TNFα e pacientes controles que apresentavam queixas gastroenterológicas gerais excluindo as intestinais do ambulatório de gastroenterologia geral da PPC-UERJ.

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUPE-UERJ (ANEXO A) e todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes de ingressar no estudo (TCLE) (APÊNDICE A).

3.2.1 Critérios de inclusão

- Idade mínima de 12 anos e máxima de 65 anos;
- Diagnóstico de DII por critérios clínicos, endoscópicos, histológicos e radiológicos, com indicação de terapia anti-TNFα segundo a Organização Européia de Crohn e Colite (ECCO) (20, 21);
- Diagnóstico de DII já em uso de terapia biológica e com rastreio inicial negativo para ILTB;
- Pacientes em acompanhamento no ambulatório de gastroenterologia geral, da PPC-UERJ, sem DII, diarreia crônica ou outra doença imunossupressora;

- Capacidade de assinar o TCLE.

3.2.2 Critérios de exclusão

- Diagnóstico de TB ativa ou passada;
- Tratamento prévio de ILTB;
- Portadores de HIV, grávidas, neoplasias e outras doenças autoimunes;
- Pacientes tratados no ambulatório de gastroenterologia geral que sejam portadores de qualquer doença imunossupressora ou que façam uso atual ou prévio de imunossupressor;
- Pacientes que se recusarem a participar do estudo.

3.3 **Métodos**

Os pacientes selecionados para participarem do estudo realizaram primeiramente o exame de IGRA através da coleta de 3 ml de sangue periférico. No mesmo dia o teste tuberculínico foi realizado com leitura 72h após a aplicação. Os dois exames foram realizados pela mesma enfermeira treinada na PPC-UERJ. Todos os pacientes que apresentaram um dos dois testes positivos para ILTB foram encaminhados para o setor de pneumologia e receberam quimioprofilaxia com isoniazida 300 mg/dia por seis meses.

3.3.1 Características dos pacientes incluídos

- Demográficas:

Nome, idade, data de nascimento, sexo, cor, profissão, naturalidade.

- Clínicas:

DC ou RCUi, fenótipo da doença, fenótipo predominante e extensão da doença conforme a classificação de Montreal (ANEXO B) (70), ano de início dos sintomas, indicação do biológico, cirurgias pela doença prévia, doença perianal presente, medicações pré-biológico, tipo de biológico e ano de início, tabagismo, TB prévia, contato com portador de TB, vacinação prévia com BCG e cicatriz vacinal (APÊNDICE B).

- Resultado PT:

Para os pacientes já em uso de biológico.

3.3.2 Técnica de rastreio de ILTB

3.3.2.1 Realização do PT

O PT foi realizado na disciplina de Gastroenterologia no Hospital Universitário Pedro Ernesto-HUPE-PPC, pela técnica de enfermagem habilitada. O PT foi administrado utilizando a técnica Mantoux. No Brasil o PT utilizado é o PT RT23.

Técnica de Aplicação (Mantoux):

O teste é realizado mediante a injeção intradérmica (na camada mais superficial da pele) de 0,1 ml, equivalente a 2UI (unidades de tuberculina - extrato proteico purificado). Deve ser armazenada na temperatura de 4º a 8º, não podendo ser congelada ou exposta à luz solar direta. O local mais apropriado para a injeção é o terço médio ventral do antebraço, de preferência esquerdo.

Quando a injeção é realizada corretamente, há a formação de pequena pápula pálida com aproximadamente 10 mm de largura, com aspecto de “casca de laranja” e que se mantém endurecida por cerca de dez minutos, conforme a figura abaixo (Figura 2).

Figura 2 - Método de aplicação do PT

Fonte: CDC. https://www.cdc.gov/tb/topic/testing/tbtesttypes.htm.

A reação positiva se observa quando há uma infiltração nodular, plana e irregular (pápula), acompanhada de área eritematosa (avermelhada) de extensão mais ou menos delimitada.

Deve-se medir o tamanho apenas do nódulo (pápula) com uma régua milimétrica no sentido transversal em relação ao maior eixo do braço (imagem) e anotar o resultado em milímetros, conforme figura abaixo (Figura 3).

Figura 3 - Método de leitura do PT

Fonte: CDC. https://www.cdc.gov/tb/topic/testing/tbtesttypes.htm.

Interpretação:

A leitura é realizada após 48-72h após a aplicação e é considerado como infectado pelo Mtb, o paciente que tiver enduração igual ou superior a 5 mm.

3.3.2.2 Realização do IGRA

O IGRA foi realizado na disciplina de Patologia da Faculdade de Ciências Médicas (FCM), pela professora adjunta da disciplina geral da FCM, Luciana Rodrigues e pela bióloga Raquel Corrêa.

O método do IGRA utilizado foi o Quantiferon-TB Gold In-Tube, que utiliza o método *ELISA* para mensuração da produção de interferon gama a partir das células T do sangue periférico.

Realização da coleta e armazenagem das amostras

A coleta de sangue periférico foi realizada diretamente nos tubos do Kit QuantiFERON-TB Gold In-Tube (Cellestis, EUA - catálogo: 10338930074; Nil [controle negativo: sem estímulos], Antígenos TB específicos [estímulos ESAT-6, CFP-10 e TB7,7], Mitógeno [controle positivo: fitohemaglutinina]). Logo após a coleta, os tubos foram homogeneizados por inversão cuidadosa (10 vezes) para a devida homogeneização do sangue com os compostos nos respectivos tubos.

Ao chegar no laboratório, os tubos foram novamente homogeneizados por inversão (10 vezes) e incubados a 37°C durante 24 horas (16 - 24 horas), em incubadora (Thermo Fisher Scientific - Forma Series II Water Jacketed CO_2). No dia seguinte, os tubos foram centrifugados a 3000 xg, a 25°C por 15 minutos (Centrífuga Beckman Coulter - Allegra X-15R) e os plasmas das culturas estimuladas ou não, foram coletados em 3 alíquotas para cada amostra (Nil, Antígeno, Mitógeno) e estocados em freezer a -20°C (2 alíquotas) e -80°C (1 alíquota). Após a coleção das amostras, estas foram submetidas ao Ensaio Imunoenzimático (ELISA) específico para a dosagem dos níveis de IFN-γ, processado segundo instruções do fabricante, Kit QuantiFERON-TB Gold, Cellestis, EUA - catálogo: 10338930072).

Protocolo Kit QuantiFERON-TB

- Preparo dos reagentes e amostras:

Inicialmente, retiramos as amostras, a serem dosadas, do freezer - 20°C para seu total descongelamento a 25°C por 1 hora, bem como, a placa e o diluente verde (“Green Diluent” - GD) da geladeira (2° a 8°C) para que atinjam a temperatura de 25°C. Durante este período, preparou-se o tampão de lavagem (30mL do concentrado 20X em 570mL de água destilada),

reconstituindo-se o padrão do IFN-γ (para a curva-padrão) e o conjugado concentrado 100X (anticorpo secundário conjugado a enzima peroxidase) com os volumes requeridos de água mili-Q em cada frasco, de acordo com o lote. Após a diluição total do conjugado (mínimo de 15 minutos), preparou-se o conjugado de trabalho adicionando 70µL de conjugado em 7mL de GD (proporção para uma placa de 12 colunas é 60µL de conjugado em 6mL de GD).

- Procedimento:

Com as amostras descongeladas, estas foram homogeneizadas num agitador de tubos (Quimis - agitador vortex), e em seguida, 50µL de cada amostra foi pipetada na placa, previamente sensibilizada com anticorpo de captura/primário e bloqueada de fábrica (Solução de bloqueio: Albumina de Soro Bovino - BSA). Logo após as amostras, preparou-se a curva-padrão por diluição seriada para quatro pontos (P1 = 4.0 UI/mL; P2 = 1.0 UI/mL; P3 = 0.25 UI/mL; P4 = 0 UI/mL - apenas GD), e assim, 50µL de cada ponto da diluição foi pipetada em duplicata na placa.

Em seguida, adicionou-se 50µL de conjugado de trabalho em todos os poços da placa utilizando uma pipeta multicanal. Imediatamente, protegeu-se a placa da luz cobrindo-a com papel alumínio (devido o anticorpo secundário conjugado a enzima ser fotossensível), homogeinizou-se num agitador de placas por 1 minuto e ficou incubando a temperatura ambiente de 25°C durante 2 horas. Neste intervalo, os frascos dos reagentes de substrato (Tetrametilbenzidina - TMB) e da solução de parada (ácido sulfúrico) foram retirados da geladeira (2° a 8°C) para que alcançassem a temperatura de 25°C.

Após esta incubação, a placa foi lavada em lavadora de microplaca com 200µL de tampão de lavagem em cada poço por 6 vezes (Lavadora Mindray, modelo MW-12A - versão software 1.3), ao término, a placa foi vertida em toalha de papel absorvente para retirar tampão de lavagem residual.

Posteriormente, 100µL de substrato foi adicionado em cada poço da placa utilizando uma pipeta multicanal. Imediatamente, protegeu-se a placa da luz cobrindo-a com papel alumínio (devido o anticorpo secundário conjugado a enzima, previamente adicionado, e o substrato serem fotossensíveis), homogeinizou-se num agitador de placas por 1 minuto e ficou incubando a temperatura ambiente de 25°C durante 30 minutos. A última etapa foi a adição de 50µL de solução de parada em cada poço da placa utilizando uma pipeta multicanal. Por fim, dentro de 5 minutos, a placa foi levada a um espectrofotômetro (Thermo Fisher Scientific - Multiskan FC, catálogo: 51119000) para a medição da densidade óptica (D.O.) em cada poço com filtro de 450nm e filtro de referência de 620nm (620 - 650nm).

- Interpretação dos resultados:

A conversão dos resultados de D.O. em Unidade Internacional por mililitros (UI/mL) e a interpretação dos resultados (positivo, negativo ou inconclusivo - Figura 4) foram realizadas no programa QuantiFERON-TB Gold Analysis Software, versão 2.61 (Cellestis, catálogo: 05990026).

Primeiramente avaliamos o tubo nulo isolado, se os valores de IFN do tubo nulo for maior que 8, provavelmente esse paciente apresenta alguma comorbidade que leva ao aumento da produção de IFN e portando o resultado do Quantiferon será indeterminado. Se os valores de IFN no tubo nulo for menor ou igual a 8, então avaliamos a diferença do IFN entre o tubo contendo o antígeno e o tubo nulo. Se essa diferença for maior ou igual a 0,35 UI/ml e maior ou igual a 25 % do valor do nulo podemos dizer que o resultado do IGRA foi positivo. Se a diferença for maior ou igual a 0,35 UI/ml entretanto menor que 25% do valor do nulo ou se a diferença for menor que 0,35 UI/ml e o valor do IFN do tubo mitogênico maior ou igual a 0,5 UI/ml, o Quantiferon será negativo. Se a diferença for menor que 0,35 UI/ml e o valor do IFN do tubo mitogênico menor que 0,5 UI/ml, o Quantiferon é indeterminado.

Figura 4 - Fluxograma de interpretação dos resultados quando os tubos de Nil, Antígeno e Mitógeno são utilizados

Nulo [UI/mL]	Antigénio da TB menos nulo [UI/mL]	Agente mitogénico menos nulo [UI/mL][1]	QuantiFERON®-TB [UI/mL]	Relatório/Interpretação
≤ 8,0	< 0,35	≥ 0,5	**Negativo**	*Infecção por M. tuberculosis* NÃO provável
	≥ 0,35 e < 25% do valor do nulo	≥ 0,5		
	≥ 0,35 e ≥ 25% do valor do nulo	Qualquer um	**Positivo**[2]	*Infecção por M. tuberculosis* provável
	< 0.35	< 0,5	**Inconclusivo**[3]	Resultados são inconclusivos quanto à resposta ao antigénio da TB
	≥ 0,35 e < 25% do valor do nulo	< 0,5		
> 8,0[4]	Qualquer um	Qualquer um		

Fonte: Folheto informativo Quantiferon-TB Gold (Método in-tube), Cellestis.

3.4 **Análise estatística**

As proporções foram comparadas pelo teste exato de Fisher. A concordância entre os testes foi avaliada pelo coeficiente Cohen's Kappa. As correlações com os parâmetros clínicos

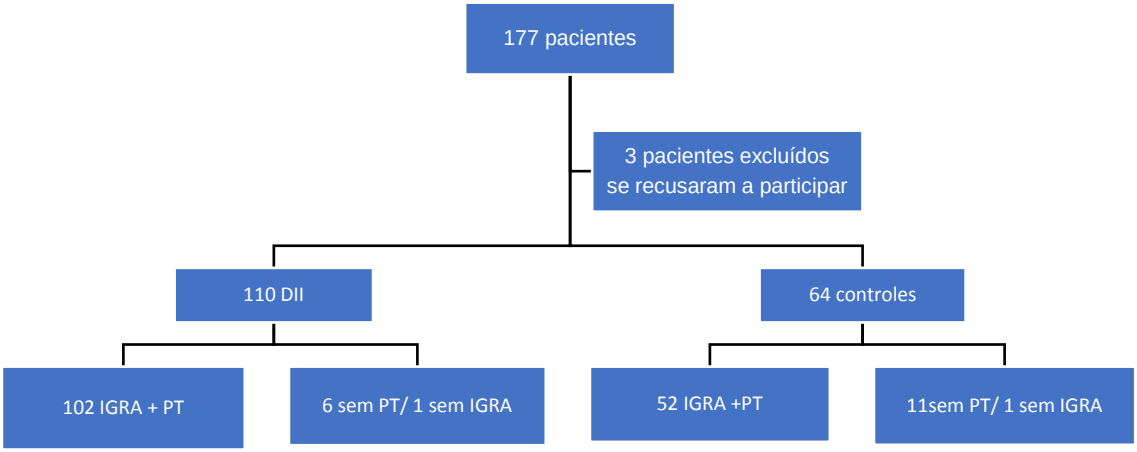
e laboratoriais foram analisadas pelo teste de classificação de *Spearman* e o nível de significância foi fixado em 0,05. A acurácia diagnóstica do PT relatando-se sua sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) utilizou-se como teste padrão ouro o IGRA.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização e análise descritiva da amostra

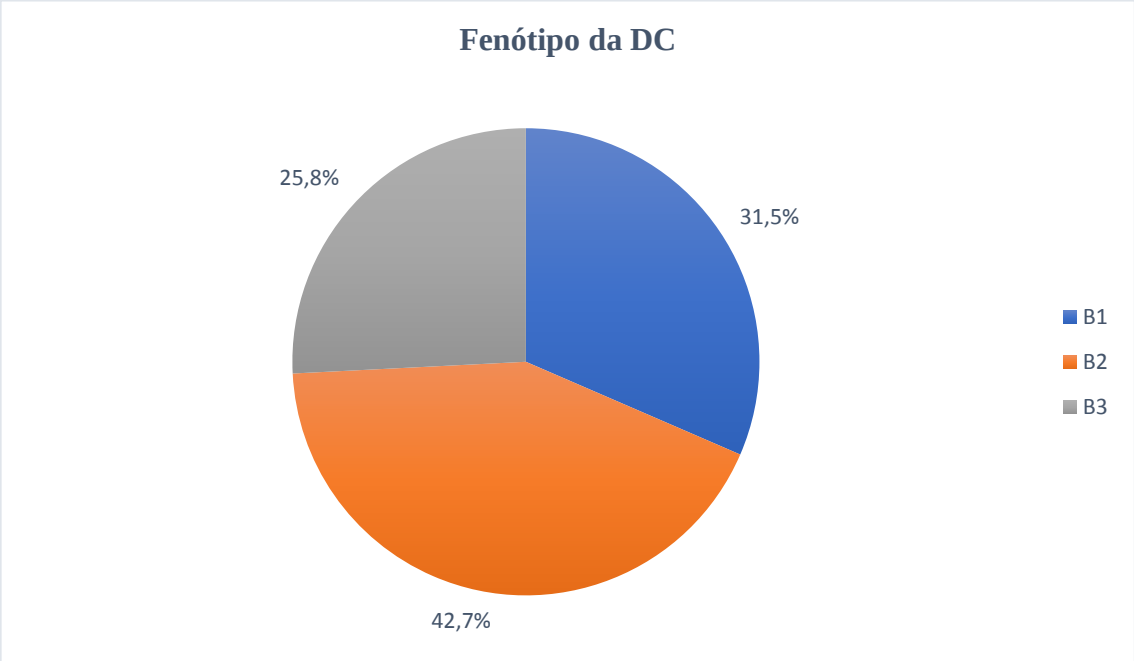
No período de janeiro de 2015 a dezembro de 2016, 177 pacientes foram considerados elegíveis e selecionados para participar do estudo. Destes, 3 pacientes foram excluídos porque se recusaram a participar, figura 5. Conforme representado na tabela 2, houve predomínio do sexo feminino (64%) e a média de idade foi de 41 (± 17) anos. Dentre os 174 pacientes incluídos, 110 tinham o diagnóstico de DII e 64 formaram o grupo controle. Dos pacientes com DII, 89 tinham DC e 21 RCUi. Nos portadores de DC, o fenótipo predominante foi estenosante 42,7%, seguido do inflamatório 31,5% e fistulizante 25,8% (Gráfico 1). Em relação a extenção, 35% tinham doença ileocolônica, 32,6% ileal, 15,8% colônica e 16,6% dos pacientes apresentavam outras localizações (Gráfico 2). Dentre os portadores de RCUi, a maioria dos pacientes tinham pancolite 62% seguido de colite esquerda 33% e proctite 5% (Gráfico 3).

Figura 5 - Fluxograma de inclusão dos pacientes



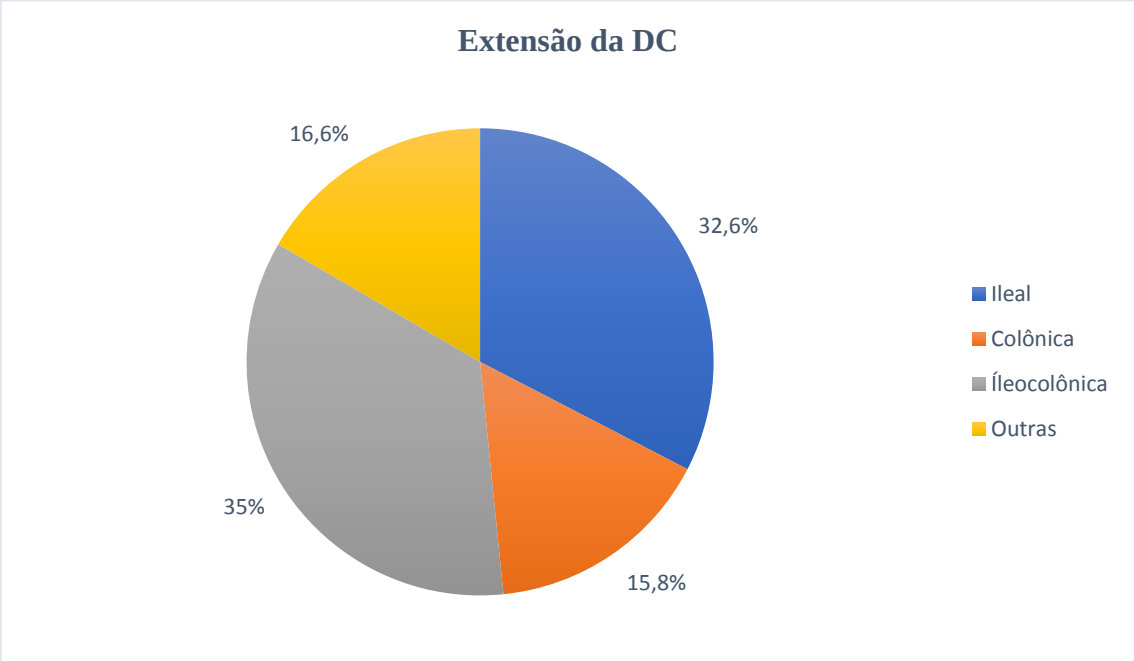
Fonte: A autora, 2018.

Gráfico 1 - Fenótipo da DC segundo a classificação de Montreal (70)



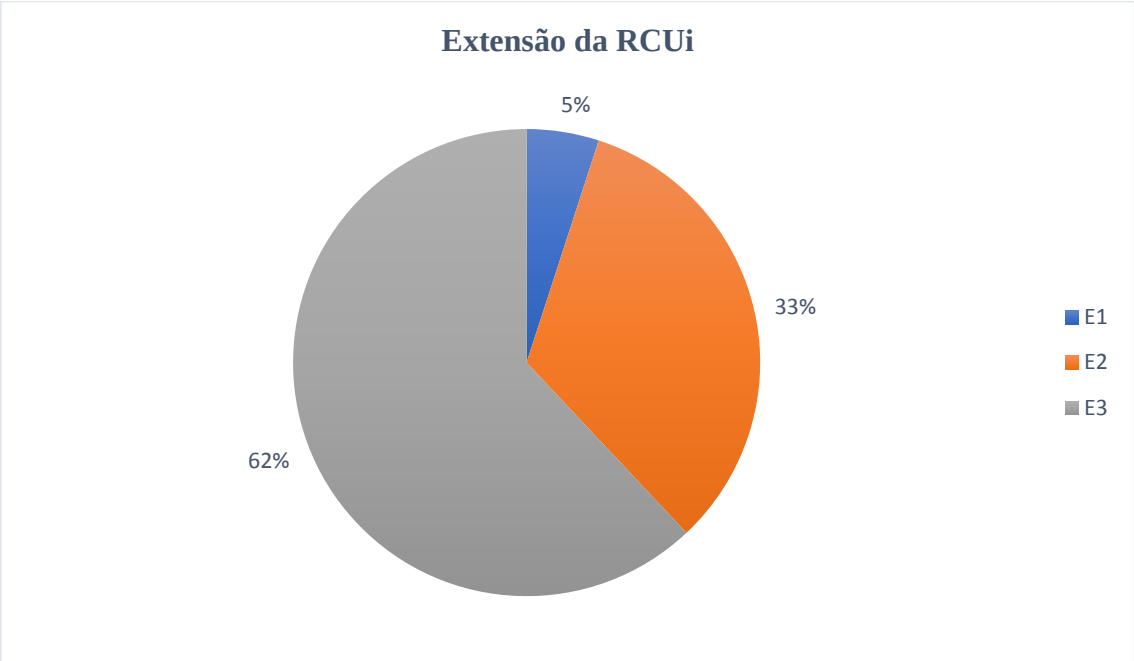
Legenda: B1: não penetrante e não estenosante; B2: estenosante; B3: penetrante.
Fonte: A autora, 2018.

Gráfico 2 - Extensão da DC segundo a classificação de Montreal (70)



Legenda: outras: L1P, L2P, L3P, P (doença perianal) e L4
Fonte: A autora, 2018.

Gráfico 3 - Extensão da RCUi segundo a classificação de Montreal (70)



Legenda: E1: proctite; E2: colite esquerda; E3: colite extensa.
Fonte: A autora, 2018.

A maioria dos pacientes com DII estavam em uso de terapia imunossupressora (79,8% para DC e 76,2% para RCUi), além disso, metade dos pacientes com DC já estavam em uso de terapia anti-TNFα há mais de um ano. Todos os pacientes haviam sido vacinados para BCG ao nascimento sendo que 4 deles (2 DC e 2 controles) não apresentavam cicatriz vacinal. As características demográficas dos pacientes estão expostas na tabela 2.

Tabela 2 - Características demográficas dos pacientes

Parâmetros	Todos	DC	RCUi	Controles
No. de pacientes	174	89	21	64
Masculino (%)	63 (36)	42 (47,2)	7 (33,3)	14 (21,8)
Idade (média± DP) anos	41,45(±17,2)	37,75(±15,7)	36,67(±13,5)	48,17(±18,3)
Localização da doença (%) [a]				
L1	29 (16,6)	29 (32,6)	0	0
L1P	1 (0,6)	1 (1,1)	0	0
L2	14 (8)	14 (15,8)	0	0
L2P	3 (1,8)	3 (3,3)	0	0
L3	31 (17,8)	31 (35)	0	0
L3P	3 (1,8)	3 (3,3)	0	0
L4 apenas	4 (2,3)	4 (4,5)	0	0
L4	3 (1,8)	3 (3,3)	0	0
P	1 (0,6)	1 (1,1)	0	0
Extensão da doença (%) [a]				
E1	1 (0,6)	0	1 (5)	0
E2	7 (4)	0	7 (33)	0
E3	13 (7,5)	0	13 (62)	0
Fenótipo da doença (%)[a]				
B1	28 (16,1)	28 (31,5)	0	0
B2	38 (21,8)	38 (42,7)	0	0
B3	23 (13,2)	23 (25,8)	0	0
Contato com TB (%)	19 (12,2)	3 (3,6)	1 (5)	15 (28,8)
Cicatriz vacinal (%)	170 (97,7)	87 (97,7)	21(100)	62 (96,8)
Tabagismo (%)	8 (5,1)	5 (6)	1 (5)	2 (3,8)
Imunossupressão (%)	87 (50)	71 (79,8)	16 (76,2)	0
Uso de anti-TNFα (%)	51 (29,3)	46 (51,70)	5 (23,8)	0

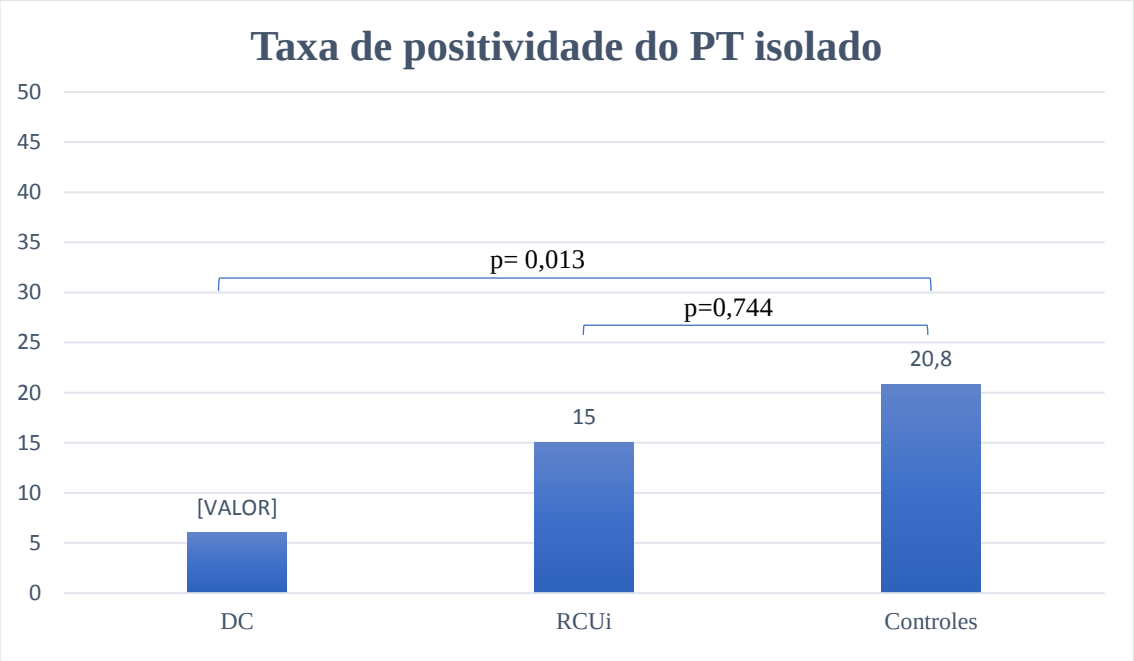
Dados estão apresentados como números (No.) e percentagem (%), se aplicável, média±desvio-padrão (DP).
Diagnóstico de acordo com a classificação de Montreal (70).
Fonte: A autora, 2018.

4.2 **Resultados do PT isolado**

Do total de pacientes analisados 17 não realizaram o PT, sendo cinco deles com DC, um com RCUi e 11 controles.

A análise do PT isolado demonstrou uma taxa de positividade baixa para os doentes portadores de DII, principalmente para os pacientes com DC. Quando se avalia os pacientes com DC e RCUi em relação ao controle, observa-se uma taxa de positividade de 6% para DC com significância estatística (p = 0,013) e 15% para RCUi, não tendo este último significância estatística (p = 0,744). Para o grupo controle observa-se uma taxa maior quando comparado ao grupo da DII, de 20,8%. Esses resultados estão resumidos no gráfico abaixo (Gráfico 4).

Gráfico 4 - Taxa de positividade do PT isolado

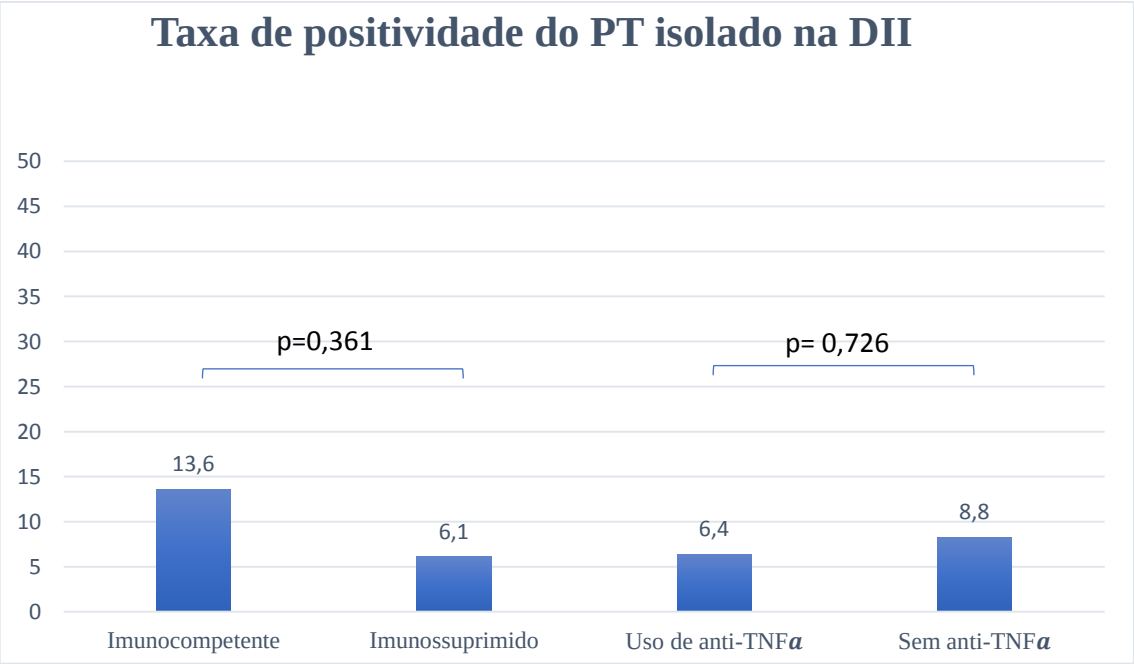


Fonte: A autora, 2018.

Quanto se avalia os resultados do PT levando em consideração a imunossupressão e o uso do anti-TNFα no grupo da DII observam-se taxas de positividade menores com a imunossupressão e o uso de anti-TNFα e essas variáveis não foram estatisticamente significantes. A taxa de positividade foi de 13,6% para os pacientes imunocompetentes, 6,1% para os imunossuprimidos com azatioprina e/ou corticoide (p= 0,361), 8,8% para aqueles sem

uso de anti-TNFα e 6,4% para os que estavam em uso de terapia biológico (p= 0,726). Esse resultado está resumido no gráfico 5.

Gráfico 5 - Taxa de positividade do PT isolado na DII



Fonte: A autora, 2018.

4.3 **Resultados do IGRA isolado**

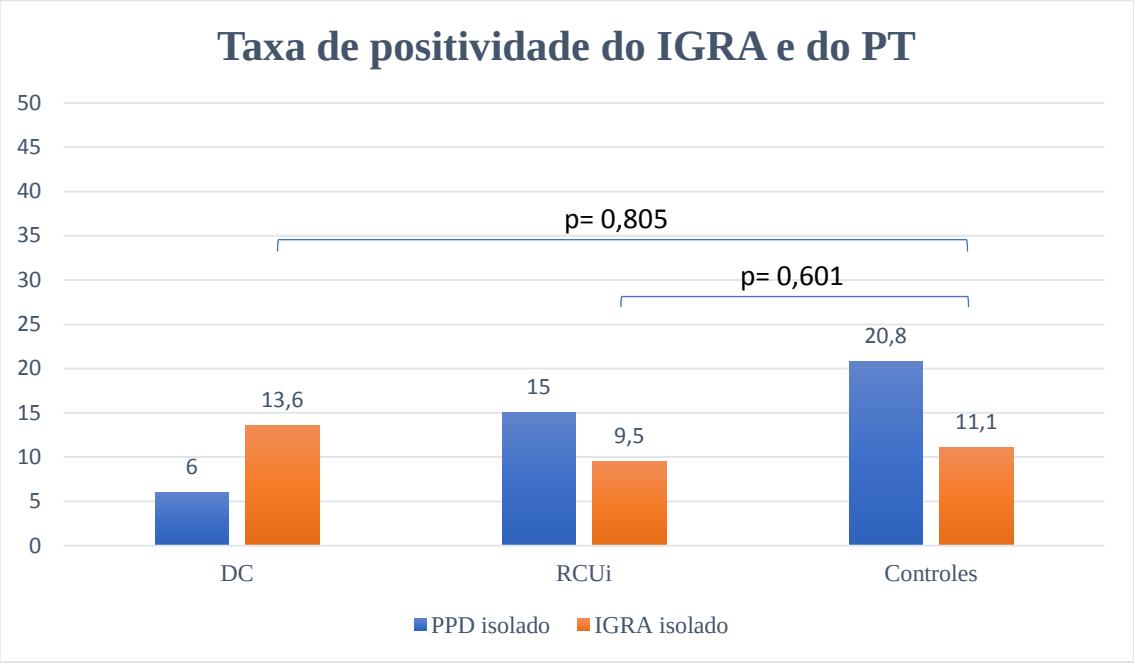
Do total de pacientes analisados, somente dois deles não apresentaram resultados de IGRA, sendo um com DC e um controle. Além disso, consideramos resultados de IGRA indeterminado (2,3% dos pacientes) como positivos, levando em consideração que esses pacientes não podem ter ILTB afastada e que por isso foram submetidos a quimioprofilaxia com isoniazida. A taxa de positividade desse teste isolado foi maior para DC e menor para a RCUi e controle quando comparada a taxa de positividade do PT isolado, sem significância estatística.

Quanto consideramos os pacientes portadores de DC a taxa de positividade foi de 13,6% (p = 0,805), para retocolite ulcerativa 9,5% (p = 0,601) e para os controles 11,1%.Quando consideramos a imunossupressão as taxas de positividade foram maiores com o teste do IGRA demonstrando uma porcentagem de 11,4% para os imunossuprimidos e 19% para os imunocompetentes (p = 0,466). Assim como quando foi avaliado o uso da terapia anti-

TNFα, demonstrando a taxas de positividade de 14% para os pacientes sem biológico e 11,5% para aqueles com biológico (p = 0,779).

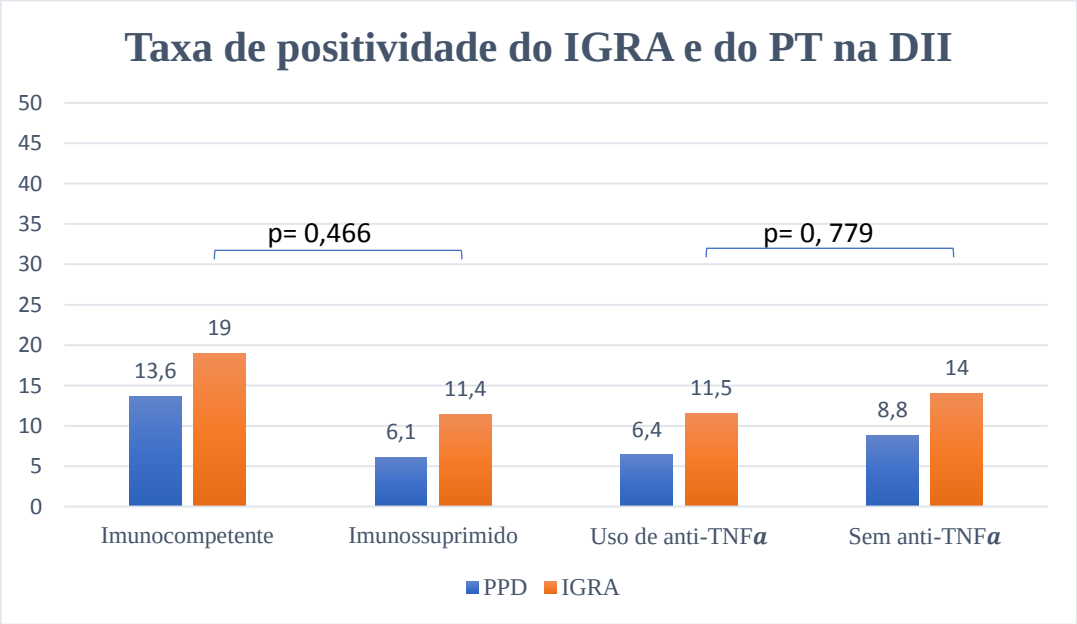
Nos gráficos 6 e 7 podemos observar as taxas comparativas entre os dois métodos.

Gráfico 6 - Taxa de positividade do IGRA e do PT



Fonte: A autora, 2018.

Gráfico 7 - Taxa de positividade do IGRA e do PT na DII

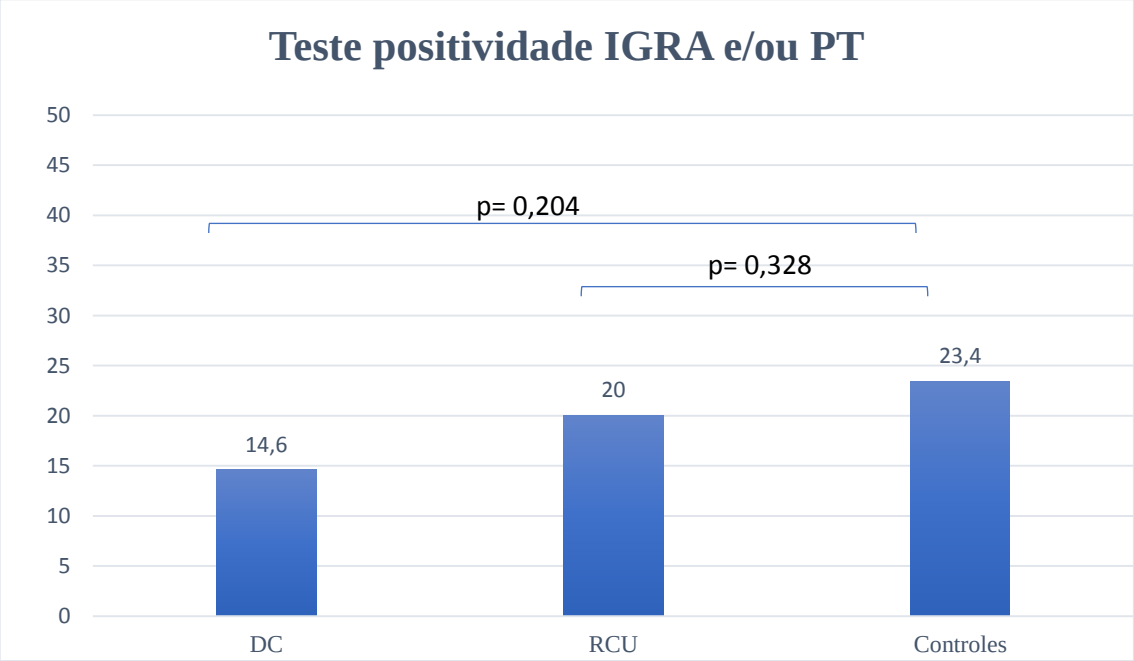


Fonte: A autora, 2018.

4.4 **Associação dos métodos - IGRA e/ou PT**

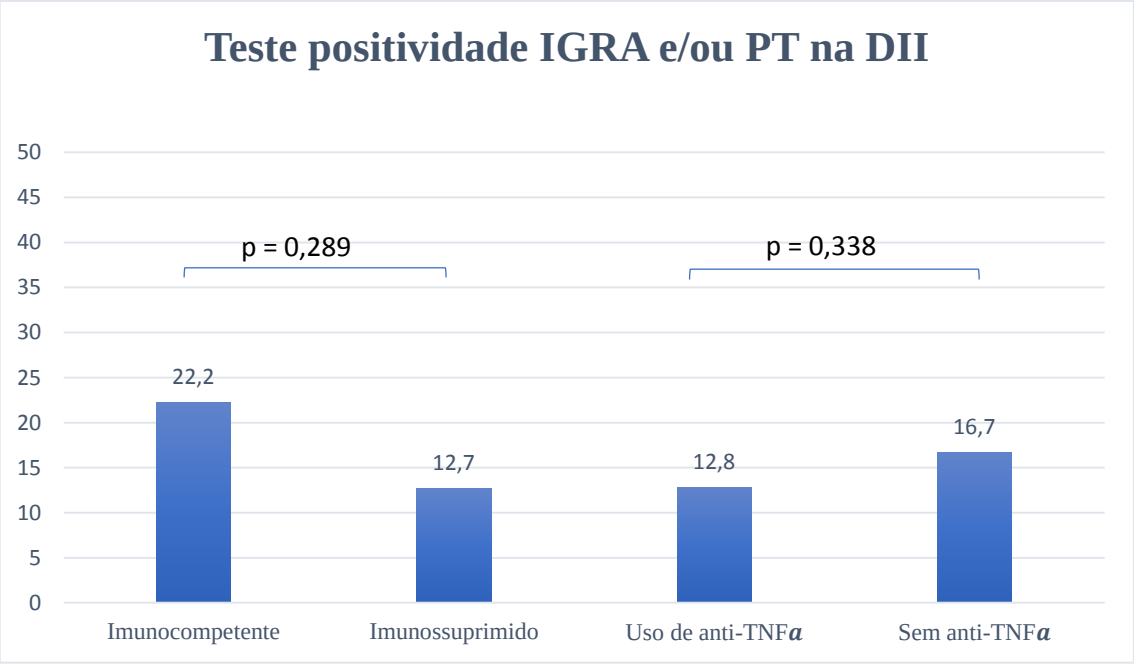
Quanto levamos em consideração os dois métodos, sendo pelo menos um deles positivo, a taxa de positividade aumenta para DC e controle, mas sem significância estatística. Para os pacientes portadores de DC a taxa de positividade passa a ser de 14,6% (p= 0,204), para retocolite ulcerativa 20% (p= 0,328) e para os controles 23,4%. Considerando a imunossupressão a taxa de positividade é de 22,2 % para os imunocompetentes e 12,7% para os imunosuprimidos (p= 0,289) não tendo significância estatística. Assim como as taxas são maiores para os pacientes em relação ao uso de biológico. Para aqueles em terapia anti-TNFα a taxa de positividade foi de 12,8% e 16,7% para aqueles que não estavam fazendo uso dessa medicação (p = 0,338). Estes resultados estão resumidos nos gráficos 8 e 9.

Gráfico 8 - Taxa de positividade dos pacientes que fizeram pelo menos um dos testes



Fonte: A autora, 2018.

Gráfico 9 - Taxa de positividade dos pacientes que fizeram pelo menos um dos testes na DII

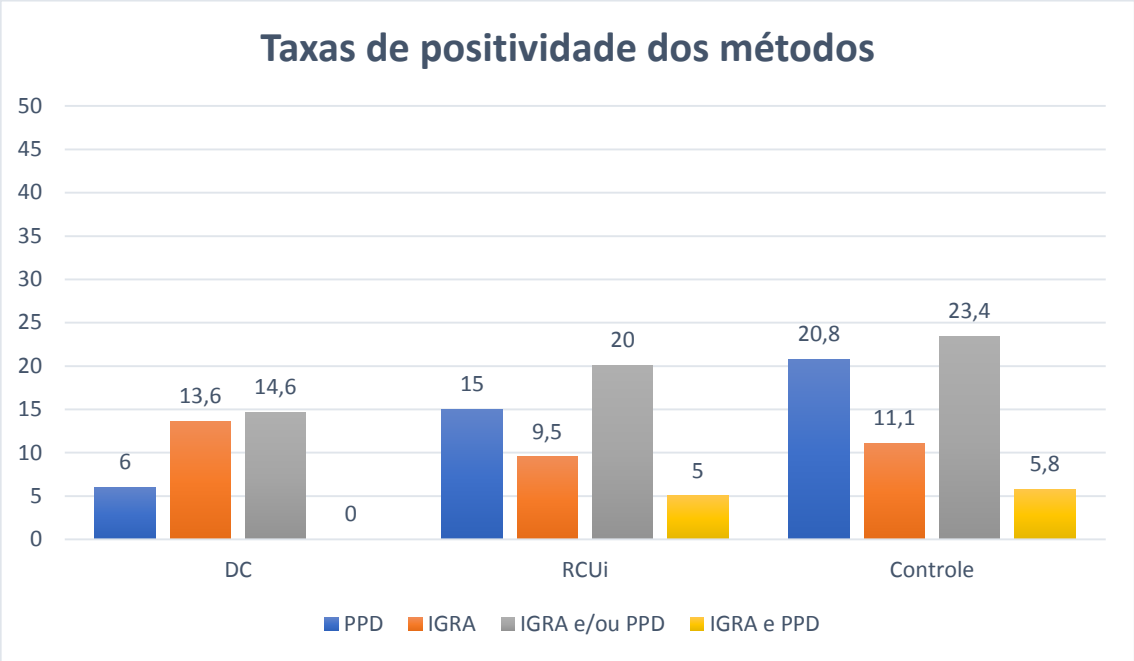


Fonte: A autora 2018.

4.5 **Concordância dos métodos - IGRA e PT**

Quando levamos em consideração somente os pacientes que foram submetidos ao IGRA e ao PT, 155 pacientes, observa-se uma taxa de positividade muito baixa, sendo de 5% para RCUi, 0% para DC, 5,8 % para controle. A tabela abaixo mostra as taxas de positividade dos métodos isolados e em associação (Gráfico 10).

Gráfico 10 - Taxas de positividade dos métodos



Fonte: A autora, 2018.

O coeficiente de concordância foi fraco entre os métodos, sendo para a DC de 79.5% (Kappa: -0,093), RCUi 85% (Kappa: 0,318) e controles 76.9% (Kappa: 0,202). Assim como a taxa de concordância também foi baixa para uso de imunossupressores (kappa: sem IS: 0,146; com IS: -0,088) e uso de anti-TNFα (sem anti-TNFα: -0,123; com anti-TNFα: 0,150), demonstrando que essas variáveis não influenciaram os resultados. Em resumo a tabela abaixo mostra as porcentagens de concordância e discrepâncias dos métodos, tabela 3.

Tabela 3 - Resultados do IGRA e PT

	n (%)	**QTF+/PT+**	**QTF+/PT-**	**QTF-/PT-**	**QTF-/PT+**	**QTF ind/PT-**
Todas DII	103	1 (1,0)	9 (8,7)	82 (79,6)	7 (6,8)	4 (3,9)
DC	83 (80,6)	0 (0,0)	8 (9,7)	66 (79,5)	5 (6,0)	4 (4,8)
RCUi	20 (19,4)	1 (5,0)	1 (5,0)	16 (80,0)	2 (10,0)	0 (0,0)
IS +	82 (79,6)	0 (0,0)	6 (7,3)	67 (81,7)	5 (6,1)	4 (4,9)
IS -	21 (20,4)	1 (4,8)	3 (14,3)	15 (71,4)	2 (9,5)	0 (0,0)
Uso Anti-TNF	46 (44,6)	1 (2,2)	3 (6,5)	39 (84,8)	2 (4,3)	1 (2,2)
Sem anti-TNF	57 (55,4)	0 (0,0)	6 (10,5)	43 (75,4)	5 (8,8)	3 (5,3)
Controles	52	3 (5,8)	4 (7,6)	37 (71,2)	8 (15,4)	0 (0,0)

Legenda: IS+: com imunossupressão, IS-: sem imunossupressão.
Fonte: A autora, 2018.

4.6 **Avaliação dos métodos**

Como não existe um padrão ouro para o diagnóstico da ILTB, para fins de cálculo de especificidade, sensibilidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e acurácia consideramos o IGRA como padrão ouro, já que ele é um método mais específico para o diagnóstico da Mtb e a maior parte dos estudos demonstram sua superiodidade em relação ao PT no rastreio de ILTB. A análise estatística do PT demonstra taxas de sensibilidade e VPP baixas para todos os grupos, em especial para os portadores de DC, como mostra a tabela 4:

Tabela 4 - Performance do PT isolado, considerando o IGRA como padrão ouro

Diagnóstico	***Sensibilidade***	***Especificidade***	***VPP***	***VPN***	***Acurácia***
Total	19,05	88,81	21,05	87,50	78,06
RCUi	50,00	88,89	33,33	94,12	85,00
DC	0,00	92,96	0,00	84,62	79,52
Controle	42,86	82,22	27,27	90,24	76,92

Fonte: A autora, 2018.

Entretanto quando adicionamos o IGRA ao PT os valores melhoram substancialmente em especial na população portadora de DC, demonstrando, portanto que talvez para esse grupo populacional os dois exames sejam necessários para o diagnóstico de ILTB. Conforme apresentado na tabela 5:

Tabela 5 - Performance do IGRA + PT, considerando IGRA como padrão ouro

Diagnóstico	***Sensibilidade***	***Especificidade***	***VPP***	***VPN***	***Acurácia***
Total	80,95	88,88	53,12	96,75	87,74
RCUi	100,00	88,89	50,00	100,00	90,00
DC	66,67	92,96	61,54	94,29	89,15
Controle	100,00	82,22	46,67	100,00	84,61

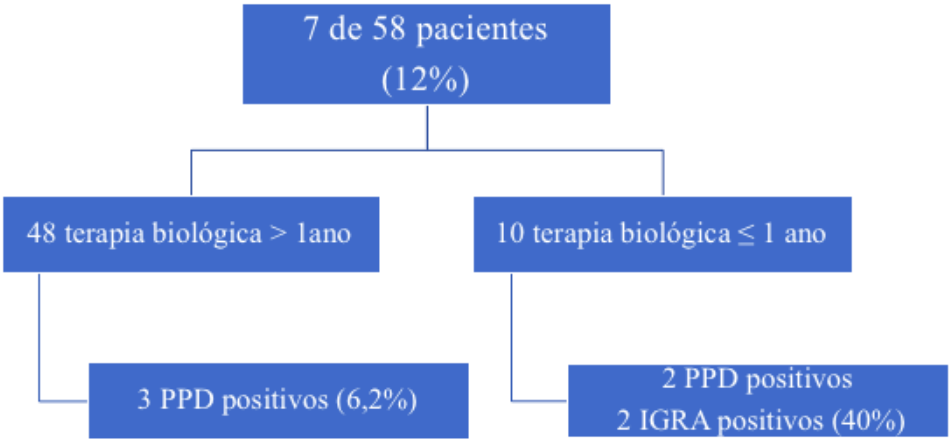
Fonte: A autora, 2018

4.7 **Avaliação dos pacientes após início de terapia biológica**

Durante o período do trabalho, 7 de 58 (12%) pacientes apresentaram conversão dos testes de triagem para ILTB. Cinco pacientes dentre os 58 já em uso de terapia biológica tornaram-se PT positivos após início da terapia. Dois pacientes positivaram no primeiro ano após o início do tratamento e os outros três positivaram com mais de um ano de terapia biológica. Apenas dois em 10 pacientes que eram virgens e foram retestados tiveram o IGRA positivo.

Durante todo o período de acompanhamento dos pacientes somente um paciente teve o diagnóstico de tuberculose que ocorreu três meses após início da terapia biológica. A apresentação da doença foi pulmonar e este apresentava PT negativo e IGRA negativo.

Figura 6 - Fluxograma dos pacientes após início da terapia biológica



Fonte: A autora, 2018

5 **DISCUSSÃO**

A TB é uma das mais temidas complicações após o início da terapia anti-TNFα e por isso os testes de triagem para ILTB são recomendados para pacientes com DII antes do início da terapia. O número de pacientes com DII, principalmente DC, vem aumentando de forma considerável nos últimos anos (71) seguido de um maior número de diagnósticos de formas graves da doença com necessidade de terapia biológica. IGRA, PT e radiografia de tórax são os exames utilizados atualmente para o rastreamento de ILTB.

No Brasil, país com alta incidência de TB, o ministério da saúde (6) recomenda a realização de PT e radiografia de tórax para rastreamento da ILTB, mas alguns pacientes desenvolvem TB apesar da triagem negativa, assim como ocorre em outros países (38), conforme demonstrado por um estudo retrospectivo realizado por Aye Thi e cols (2018) (72), que mostrou que dos 596 pacientes com DII com rastreio negativo para ILTB, seis desenvolveram tuberculose ativa.

No nosso ambulatório de DII, composto por aproximadamente 600 doentes, foi realizado um trabalho retrospectivo no período de julho de 2017 a novembro de 2017, com revisão de prontuários para avaliação de ILTB. Observou-se que 19 doentes desenvolveram TB ativa, sendo 16 com DC e 3 RCUi. A localização mais frequente de apresentação foi a pulmonar e o biológico mais utilizado o infliximabe. Todos os pacientes fizeram radiografia de tórax que foi normal e PT, sendo esse positivo em dois pacientes que foram submetidos a quimioprofilaxia com isoniazida e a terapia biológica iniciada dois meses depois. Um dos pacientes apresentou TB de forma disseminada com evolução para o óbito. Este paciente foi o único que tinha os dois testes de rastreio, sendo o IGRA positivo e o PT negativo. Com essa casuística, mesmo que pequena, surge a dúvida se seria esse rastreio, com radiografia de tórax e PT, a melhor estratégia para essa população e ainda, o questionamento se seria necessário nova pesquisa de ILTB após o início da terapia anti-TNFα.

Vários estudos compararam PT e IGRA (40, 51, 59, 73) para o rastreamento de ILTB, mas apenas um número limitado deles em uma população de DII em um país de alta prevalência de TB e vacinada com BCG ao nascimento. Visando adotar a melhor estratégia para pesquisa de ILTB na DII a fim de evitar TB ativa e consequentemente suspensão do tratamento anti-TNFα e o risco de nova atividade da doença, este estudo objetivou comparar os dois métodos mais utilizados para ILTB na população de DII antes do uso da terapia biológica, durante a terapia biológica e nos pacientes controles.

Os pacientes estudados eram de meia idade, sendo esses um pouco mais velhos no grupo controle, com predomínio do sexo feminino, com perfil de doentes com DII com maior gravidade, candidatos ou já em uso de terapia anti-TNFα, conforme o descrito na literatura. Pacientes com DC com fenótipo estenosante íleocolônico e pacientes com RCUi do tipo pancolite. Esse perfil de pacientes tanto para DC como para RCUi acompanha os dados da literatura como sendo mais frequentemente pacientes com indicação para uso de terapia biológica. Por ser o nosso país endêmico para TB, todos os pacientes foram vacinados para BCG, entretanto 4 pacientes não apresentavam cicatriz vacinal.

Quase 80% dos pacientes com DII estavam em uso de uma ou mais terapia imunossupressora, entretanto poucos doentes desse grupo referiram contato com bacilíferos de TB. Quanto as variáveis demográficas não houve diferença estatística entre os pacientes e os controles.

O presente estudo mostrou que a taxa de concordância entre PT e IGRA foi baixa em todos os pacientes (kappa: controle = 0,202; RCUi = 0,318; e CD = -0,093) e esse resultado está de acordo com outro estudo realizado no Brasil, em trabalhadores da área da sáude, que mostrou que a concordância entre os métodos foi baixa, sendo esta diferença devido principalmente a fatores como estado vacinal e idade (74). Além disso, no nosso trabalho esses resultados de IGRA e PT não foram afetados pela imunossupressão e terapia anti-TNFα, de acordo com outros estudos publicados anteriormente (75, 76). Mantzaris e cols. (76) avaliaram o impacto da imunossupressão nos resultados do IGRA e do PT em 75 pacientes portadores de DII na Grécia, país com baixa prevalência de TB mas com alta taxa de imigrantes para áreas endêmicas de TB, e demonstrou taxas de positividade do PT de 17% para os imunocompetentes e 21,5% para os imunossuprimidos com p=0,761, assim como o IGRA apresentou taxas de positividade de 19,1% e 25% com p=0,572, demonstrando que não houve significância estatística. Ao contrario do observado em nosso estudo, alguns outros artigos demonstraram impacto negativo da imunossupressão sobre os resultados do IGRA e PT (58, 69, 77).

O teste de positividade do PT isolado para DC em comparação com o controle foi significativamente discrepante (6% x 20,8%), diferente da RCUi que demonstrou taxas de positividade semelhantes (15% x 20,8%). Quando avaliamos o IGRA isolado, as taxas de positividade para DC se aproximam (13,6% x 11,1%) e a RCUi permanece semelhante, demonstrando que especialmente para os pacientes com DC, talvez o PT isolado não seja o melhor método de rastreio. Essa diferença de positividade da DC e da RCUi não pode ser explicada pela taxa de imunossupressão porque esta foi semelhante em ambos os grupos mas

talvez possa ser justificada pela maior porcentagem de doentes em uso de terapia biológica nos pacientes com DC (51,7 % DC e 23,8% RCUi). No subgrupo de pacientes de DC, a taxa de positividade melhora significativamente quando o IGRA é adicionado ao PT (6% para 14,6%). Esses resultados estão de acordo com os relatados por Ponce de Leon e cols. (73). No entanto, Ponce de Leon e cols. avaliaram essa associação em 101 pacientes com artrite reumatoide em Lima, Peru, e demostraram que o teste de positividade do IGRA foi de 44,6% e o teste de positividade do PT foi de 26,7%, demonstrando melhores taxas com o IGRA do que com o PT. No nosso estudo, a taxa de positividade do PT foi menor com 15,2% para DII e taxa de positividade do IGRA de 25,5 %. Isso ocorreu provavelmente porque toda a população foi vacinada para a BCG ao nascimento e, portanto o impacto da vacinação sobre os resultados do PT não são visíveis (44). Um estudo transversal realizado na Bahia, onde a amostra populacional é semelhante a do presente estudo, analisou os resultados do PT em 119 pacientes com DII com predomínio de DC e demonstrou taxas de positividade do PT superiores para RCUi e DC da observada em nosso estudo, 28% e 15%, 10,5% e 6% respectivamente. Essa diferença talvez possa ser explicada pela baixa porcentagem de doentes em uso de imunossupressores no estudo realizado na Bahia (34,5%) em comparação com o presente estudo (80%) (78).

Após o início do tratamento com anti-TNFα, 5 pacientes de 58 tornaram-se positivos para o PT (8,62%), enquanto 2 de 10 tornaram-se positivos para o IGRA (20,0%). Os resultados indeterminados do IGRA foram menores do que o observado na literatura, 2,67% no nosso estudo x 13-20% na literatura, (72). A maioria dos estudos repetem o IGRA quando este apresenta resultado indeterminado entretanto em nosso estudo esses resultados foram considerados positivos, uma vez que a quimioprofilaxia de Mtb foi prescrita para esses pacientes, bem como para os pacientes com rastreio positivo. Não houve concordância de positividade de conversão entre esses doentes. Esse achado pode ser explicado porque o PT e o IGRA usam diferentes respostas imunes e antigênicas, portanto a concordância entre as duas técnicas pode não ser a ideal (73, 79). Portanto, nosso estudo demonstrou que 12% (7 em 58) dos pacientes com retestagem com IGRA e/ ou PT apresentaram conversão dos testes de rastreio de ILTB. Esses dados são maiores do que os observados na literatura e dessa forma, pode-se sugerir que na nossa população a retestagem após inicio da terapia biológica faz-se necessária. Outros estudos mostraram porcentagem de conversão menor, Bermejo e cols. (2013) (80) avaliaram a utilidade de testes de triagem repetidos de TB em pacientes com DII em terapia anti-TNFα e mostraram que a incidência cumulativa de tuberculina foi de 2,7% (IC 95% 0,3-9,4%, 2/74) e todos os testes do IGRA foram negativos. O outro relato de Papay e

cols. (2012) (36) mostraram menores resultados, com uma conversão de 4,2% de PT e nenhum caso de conversão de IGRA em pacientes com DII em uso de anti-TNFα. Todos esses estudos citados foram realizados em países com baixa prevalência de TB. Taxas maiores de conversão do IGRA e do PT em nosso estudo podem ser explicadas porque o estudo foi feito em uma área endêmica e a alta taxa observada pelo IGRA pode ter ocorrido devido a pequena amostra analisada, somente 10 doentes.

A ausência de padrão ouro para ILTB dificulta o estabelecimento dos testes de rastreio em relação a sensibilidade e especificidade para o Mtb. Lu e cols. (2016) (81) fizeram uma meta análise com 16 trabalhos na China para comparar a acurácia do IGRA e do PT no diagnóstico de infecção pelo Mtb. Os resultados demonstraram uma melhor sensibilidade e especificidade com o IGRA, 84% e 66% quando comparado com o PT, 66% e 63%, respectivamente. No nosso estudo, considerando o IGRA como padrão ouro, o PT mostrou uma sensibilidade geral muito baixa (19,05%) e VPP (21,05%). No entanto, quando o IGRA foi adicionado ao PT, a sensibilidade e o aumento do VPP foram notáveis para 80,95% e 53,12%, considerando todos os pacientes. Esses achados foram mais expressivos quando consideramos o subgrupo DC. Pacientes com DC apresentaram menor sensibilidade e VPP (0,0% e 0,0%). Quando o IGRA foi analisado como um teste sequencial adicional ao PT, os resultados melhoraram notavelmente (sensibilidade de 66,67% e VPP de 61,54%). Considerando que os pacientes com DC e RCUi desse estudo apresentam taxas de imunossupressão semelhantes, acredita-se que a DC apresente algumas característica intrínseca a esse subtipo de DII, que justifique as taxas de sensibilidade e VPP bastante inferiores ao da RCUi.

As principais limitações do presente estudo foram a amostra reduzida de pacientes que repetiram os testes de rastreio, IGRA e PT após terapia anti-TNFα mas com menos de um ano da mesma e a não avaliação do custo efetividade do uso de PT isolado, IGRA isolado e IGRA com PT. A amostra reduzida de DII, apenas 10 pacientes, em uso de terapia biológica há menos de um ano demonstrou taxas de positividade bastante elevadas para o IGRA, justificando que esse exame seja repetido em pacientes com DII após inicio da terapia biológica, entretanto se a amostra fosse maior talvez não encontrássemos taxas de positividade tão elevadas, podendo não justificar repetir o exame. Além disso, a não avaliação do custo efetividade não nos permite definir qual a melhor estratégica pública de rastreio de ILTB para a população de DII que irá iniciar terapia anti-TNFα. Alguns estudos já demonstraram melhor custo efetividade do IGRA, haja vista, que ele é mais especifico e, portanto custos com quimioprofilaxia, eventos adversos e hospitalizações é menor.

Swaminath e cols (2013) (47) realizaram um estudo de custo efetividade em Nova Iorque e demonstrou que para cada 1000 pacientes com DII imunossuprimido com indicação de terapia biológica, a escolha do IGRA sobre o PT no rastreio de ILTB evita 30 casos falso negativos, 4,92 reativações de TB, 1,4 mortes por TB e 71,520 dólares. Entretanto no Rio de janeiro, cidade de realização do estudo, o custo em média do IGRA é 400 x maior que o PT e um estudo realizado nesta cidade que avaliou custo efetividade dos testes de triagem, mostraram que o PT isolado foi mais custo efetivo, entretanto o grupo populacional estudado foi diferente do estudo citado (48).

Destaca-se positivo neste trabalho o tamanho amostral de pacientes com DC e RCUi, o fato de ter sido o primeiro estudo realizado em um país onde a TB é endêmica e onde toda a população é vacinada com BCG ao nascer, além de ter avaliado pacientes com DII virgens de tratamento e pacientes com DII em uso de biológico há mais de um ano e com menos de um ano, permitindo-se inferir sobre a necessidade de repetir os testes de rastreio de ILTB após início de terapia biológica. Ressalta-se também que a análise dos indivíduos do grupo controle possibilitou estimar a influência da imunossupressão na taxa de positividade dos testes. Além disso, o tempo de seguimento dos doentes foi de dois anos, período com maior chance de desenvolvimento da TB, que permitiu dessa forma avaliar quem foram os doentes que desenvolveram tuberculose ativa. Apenas um paciente desenvolveu TB ativa e na sua forma pulmonar, após três meses do início da terapia anti-TNFα. Este paciente teve rastreio negativo para ILTB.

CONCLUSÃO

A concordância entre PT e IGRA foi baixa em todos os grupos do estudo.

O IGRA foi mais eficaz para detectar ILTB do que o PT nos pacientes com DC e teve um papel significativo como teste adicional ao PT em todos os grupos estudados.

As elevadas taxas de conversão do IGRA e do PT, justificam a retestagem dos métodos de rastreio de ILTB após inicio da terapia biológica anti-TNFα.

A imunossupressão e o uso da terapia anti-TNFα não influenciaram os resultados do IGRA e do PT.

REFERÊNCIAS

1. Solovic I, Sester M, Gomez-Reino JJ, Rieder HL, Ehlers S, Milburn HJ, et al. The risk of tuberculosis related to tumour necrosis factor antagonist therapies: a TBNET consensus statement. Eur Respir J. 2010;36(5):1185-206.

2. Chang KC, Leung CC. Systematic review of interferon-gamma release assays in tuberculosis: focus on likelihood ratios. Thorax. 2010;65(3):271-6.

3. Dobler CC. Biological agents and tuberculosis: risk estimates and screening strategies. Int J Rheum Dis. 2015;18(3):264-7.

4. WHO. Global tuberculosis report 2017. World Health Organization. 2017.

5. WHO. Global tuberculosis report 2016. Geneva: World Health Organization 2016. Report No.: Licence: CC BY-NC- SA 3.0 IGO.

6. Saúde Md. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília, Brasil, 2011. 284p p.

7. Bartalesi F, Vicidomini S, Goletti D, Fiorelli C, Fiori G, Melchiorre D, et al. QuantiFERON-TB Gold and the TST are both useful for latent tuberculosis infection screening in autoimmune diseases. Eur Respir J. 2009;33(3):586-93.

8. Delogu G, Goletti D. The spectrum of tuberculosis infection: new perspectives in the era of biologics. J Rheumatol Suppl. 2014;91:11-6.

9. Jensen PA, Lambert LA, Iademarco MF, Ridzon R. Guidelines for preventing the transmission of Mycobacterium tuberculosis in health-care settings, 2005. MMWR Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports. 2005;54(Rr-17):1-141.

10. Vos AM, Meima A, Verver S, Looman CW, Bos V, Borgdorff MW, et al. High incidence of pulmonary tuberculosis persists a decade after immigration, The Netherlands. Emerg Infect Dis. 2004;10(4):736-9.

11. Pai M, Riley LW, Colford JM, Jr. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. Lancet Infect Dis. 2004;4(12):761-76.

12. Getahun H, Matteelli A, Chaisson RE, Raviglione M. Latent Mycobacterium tuberculosis infection. The New England journal of medicine. 2015;372(22):2127-35.

13. WHO. Latent tuberculosis infection: updated and consolidated guidelines for programmatic management. Geneva: Word Health Organization; 2018. Report No.: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

14. Menzies D. Interpretation of repeated tuberculin tests. Boosting, conversion, and reversion. Am J Respir Crit Care Med. 1999;159(1):15-21.

15. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This is a Joint Statement of the American Thoracic Society (ATS) and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). This statement was endorsed by the Council of the Infectious Diseases Society of America. (IDSA), September 1999, and the sections of this statement. Am J Respir Crit Care Med. 2000;161(4 Pt 2):S221-47.

16. Smieja MJ, Marchetti CA, Cook DJ, Smaill FM. Isoniazid for preventing tuberculosis in non-HIV infected persons. The Cochrane database of systematic reviews. 2000(2):Cd001363.

17. Rugtveit J, Nilsen EM, Bakka A, Carlsen H, Brandtzaeg P, Scott H. Cytokine profiles differ in newly recruited and resident subsets of mucosal macrophages from inflammatory bowel disease. Gastroenterology. 1997;112(5):1493-505.

18. Fuss IJ, Heller F, Boirivant M, Leon F, Yoshida M, Fichtner-Feigl S, et al. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. J Clin Invest. 2004;113(10):1490-7.

19. Lichtenstein G, V Loftus E, Isaacs K, D Regueiro M, B Gerson L, Sands B. ACG Clinical Guideline: Management of Crohn’s Disease in Adults, 2018.

20. Gomollon F, Dignass A, Annese V, Tilg H, Van Assche G, Lindsay JO, et al. 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 1: Diagnosis and Medical Management. J Crohns Colitis. 2017;11(1):3-25.

21. Magro F, Gionchetti P, Eliakim R, Ardizzone S, Armuzzi A, Barreiro-de Acosta M, et al. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 1: Definitions, Diagnosis, Extra-intestinal Manifestations, Pregnancy, Cancer Surveillance, Surgery, and Ileo-anal Pouch Disorders. J Crohns Colitis. 2017;11(6):649-70.

22. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. Canadian journal of gastroenterology = Journal canadien de gastroenterologie. 2005;19 Suppl A:5a-36a.

23. Kornbluth A, Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults: American College Of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. Am J Gastroenterol. 2010;105(3):501-23; quiz 24.

24. Harbord M, Eliakim R, Bettenworth D, Karmiris K, Katsanos K, Kopylov U, et al. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 2: Current Management. J Crohns Colitis. 2017;11(7):769-84.

25. Flynn JL, Goldstein MM, Chan J, Triebold KJ, Pfeffer K, Lowenstein CJ, et al. Tumor necrosis factor-alpha is required in the protective immune response against Mycobacterium tuberculosis in mice. Immunity. 1995;2(6):561-72.

26. Yasui K. [Immunity against mycobacterium tuberculosis and risk of biological anti-rheumatic agents]. Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi. 2014;37(5):423-9.

27. Harris J, Keane J. How tumour necrosis factor blockers interfere with tuberculosis immunity. Clin Exp Immunol. 2010;161(1):1-9.

28. Matucci A, Maggi E, Vultaggio A. Cellular and humoral immune responses during tuberculosis infection: useful knowledge in the era of biological agents. J Rheumatol Suppl. 2014;91:17-23.

29. Tubach F, Salmon D, Ravaud P, Allanore Y, Goupille P, Breban M, et al. Risk of tuberculosis is higher with anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody therapy than with soluble tumor necrosis factor receptor therapy: The three-year prospective French Research Axed on Tolerance of Biotherapies registry. Arthritis Rheum. 2009;60(7):1884-94.

30. Sauzullo I, Massetti AP, Mengoni F, Rossi R, Lichtner M, Ajassa C, et al. Influence of previous tuberculin skin test on serial IFN-gamma release assays. Tuberculosis (Edinb). 2011;91(4):322-6.

31. Jo KW, Hong Y, Jung YJ, Yoo B, Lee CK, Kim YG, et al. Incidence of tuberculosis among anti-tumor necrosis factor users in patients with a previous history of tuberculosis. Respir Med. 2013;107(11):1797-802.

32. Marehbian J, Arrighi HM, Hass S, Tian H, Sandborn WJ. Adverse events associated with common therapy regimens for moderate-to-severe Crohn's disease. Am J Gastroenterol. 2009;104(10):2524-33.

33. Tubach F, Salmon D, Ravaud P, Allanore Y, Goupille P, Breban M, et al. Risk of tuberculosis is higher with anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody therapy than with soluble tumor necrosis factor receptor therapy: The three-year prospective French Research Axed on Tolerance of Biotherapies registry. Arthritis Rheum. 2009;60(7):1884-94.

34. Byun JM, Lee CK, Rhee SY, Kim HJ, Kim JW, Shim JJ, et al. The risk of tuberculosis in Korean patients with inflammatory bowel disease receiving tumor necrosis factor-alpha blockers. J Korean Med Sci. 2015;30(2):173-9.

35. Brock I, Weldingh K, Leyten EM, Arend SM, Ravn P, Andersen P. Specific T-cell epitopes for immunoassay-based diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection. J Clin Microbiol. 2004;42(6):2379-87.

36. Papay P, Primas C, Eser A, Novacek G, Winkler S, Frantal S, et al. Retesting for latent tuberculosis in patients with inflammatory bowel disease treated with TNF-alpha inhibitors. Aliment Pharmacol Ther. 2012;36(9):858-65.

37. Diel R, Loddenkemper R, Nienhaus A. Predictive value of interferon-gamma release assays and tuberculin skin testing for progression from latent TB infection to disease state: a meta-analysis. Chest. 2012;142(1):63-75.

38. Hofland RW, Thijsen SF, Verhagen MA, Schenk Y, Bossink AW. Tuberculosis during TNF-alpha inhibitor therapy, despite screening. Thorax. 2013;68(11):1079-80.

39. Huebner RE, Schein MF, Bass JB, Jr. The tuberculin skin test. Clin Infect Dis. 1993;17(6):968-75.

40. Martin J, Walsh C, Gibbs A, McDonnell T, Fearon U, Keane J, et al. Comparison of interferon {gamma} release assays and conventional screening tests before tumour necrosis factor {alpha} blockade in patients with inflammatory arthritis. Ann Rheum Dis. 2010;69(1):181-5.

41. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. Lancet. 2000;356(9235):1099-104.

42. Jasmer RM, Nahid P, Hopewell PC. Clinical practice. Latent tuberculosis infection. The New England journal of medicine. 2002;347(23):1860-6.

43. Menzies D. What does tuberculin reactivity after bacille Calmette-Guerin vaccination tell us? Clin Infect Dis. 2000;31 Suppl 3:S71-4.

44. Farhat M, Greenaway C, Pai M, Menzies D. False-positive tuberculin skin tests: what is the absolute effect of BCG and non-tuberculous mycobacteria? Int J Tuberc Lung Dis. 2006;10(11):1192-204.

45. Cobelens FG MD, Farhat M. False-positive tuberculin reactions due to non-tuberculous mycobacterial infections. Int J Tuberc Lung Dis. 2007;11:934-5.

46. Abdalhamid B, Hinrichs SH, Garrett JL, O'Neill JM, Hansen-Cain KM, Armbrust AA, et al. Utilization of the QuantiFERON-TB Gold test in a two-step process with the tuberculin skin test to evaluate health care workers for latent tuberculosis. J Clin Microbiol. 2010;48(8):2955-6.

47. Swaminath A, Bhadelia N, Wang YC. Cost-effectiveness of QuantiFERON testing before initiation of biological therapy in inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis. 2013;19(11):2444-9.

48. Steffen RE, Caetano R, Pinto M, Chaves D, Ferrari R, Bastos M, et al. Cost-effectiveness of Quantiferon(R) - TB Gold-in-Tube versus tuberculin skin testing for contact screening and treatment of latent tuberculosis infection in Brazil. PLoS One. 2013;8(4):e59546.

49. Leite Júnior JC, Ramos RTT, Robazzi TCMV. Tratamento da tuberculose latente em pacientes com doenças reumáticas juvenis: uma revisão sistemática. Revista Brasileira de Reumatologia. 2017;57(3):245-53.

50. Taxonera C, Ponferrada A, Bermejo F, Riestra S, Saro C, Martin-Arranz MD, et al. Early Tuberculin Skin Test for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection in Patients with Inflammatory Bowel Disease. J Crohns Colitis. 2017;11(7):792-800.

51. Andrisani G, Armuzzi A, Papa A, Marzo M, Felice C, Pugliese D, et al. Comparison of Quantiferon-TB Gold versus tuberculin skin test for tuberculosis screening in inflammatory bowel disease patients. J Gastrointestin Liver Dis. 2013;22(1):21-5.

52. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. This official statement of the American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This statement was endorsed by the Council of the Infectious Disease Society of America, September 1999. Am J Respir Crit Care Med. 2000;161(4 Pt 1):1376-95.

53. Mahairas GG, Sabo PJ, Hickey MJ, Singh DC, Stover CK. Molecular analysis of genetic differences between Mycobacterium bovis BCG and virulent M. bovis. Journal of bacteriology. 1996;178(5):1274-82.

54. Gey van Pittius NC, Sampson SL, Lee H, Kim Y, van Helden PD, Warren RM. Evolution and expansion of the Mycobacterium tuberculosis PE and PPE multigene families and their association with the duplication of the ESAT-6 (esx) gene cluster regions. BMC evolutionary biology. 2006;6:95.

55. Geluk A, van Meijgaarden KE, Franken KL, Wieles B, Arend SM, Faber WR, et al. Immunological crossreactivity of the Mycobacterium leprae CFP-10 with its homologue in Mycobacterium tuberculosis. Scandinavian journal of immunology. 2004;59(1):66-70.

56. Harada N, Higuchi K, Yoshiyama T, Kawabe Y, Fujita A, Sasaki Y, et al. Comparison of the sensitivity and specificity of two whole blood interferon-gamma assays for M. tuberculosis infection. The Journal of infection. 2008;56(5):348-53.

57. Papay P, Eser A, Winkler S, Frantal S, Primas C, Miehsler W, et al. Predictors of indeterminate IFN-gamma release assay in screening for latent TB in inflammatory bowel diseases. Eur J Clin Invest. 2011;41(10):1071-6.

58. Helwig U, Muller M, Hedderich J, Schreiber S. Corticosteroids and immunosuppressive therapy influence the result of QuantiFERON TB Gold testing in inflammatory bowel disease patients. J Crohns Colitis. 2012;6(4):419-24.

59. Kleinert S, Kurzai O, Elias J, Marten K, Engelke C, Feuchtenberger M, et al. Comparison of two interferon-gamma release assays and tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis in patients with immune-mediated inflammatory diseases. Ann Rheum Dis. 2010;69(4):782-4.

60. Wong SH, Gao Q, Tsoi KK, Wu WK, Tam LS, Lee N, et al. Effect of immunosuppressive therapy on interferon gamma release assay for latent tuberculosis screening in patients with autoimmune diseases: a systematic review and meta-analysis. Thorax. 2016;71(1):64-72.

61. Hradsky O, Ohem J, Zarubova K, Mitrova K, Durilova M, Kotalova R, et al. Disease activity is an important factor for indeterminate interferon-gamma release assay results in children with inflammatory bowel disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2014;58(3):320-4.

62. Qumseya BJ, Ananthakrishnan AN, Skaros S, Bonner M, Issa M, Zadvornova Y, et al. QuantiFERON TB gold testing for tuberculosis screening in an inflammatory bowel disease cohort in the United States. Inflamm Bowel Dis. 2011;17(1):77-83.

63. Goletti D, Sanduzzi A, Delogu G. Performance of the tuberculin skin test and interferon-gamma release assays: an update on the accuracy, cutoff stratification, and new potential immune-based approaches. J Rheumatol Suppl. 2014;91:24-31.

64. Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K. Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection - United States, 2010. MMWR Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports. 2010;59(Rr-5):1-25.

65. BTS recommendations for assessing risk and for managing Mycobacterium tuberculosis infection and disease in patients due to start anti-TNF-alpha treatment. Thorax. 2005;60(10):800-5.

66. Greveson K, Goodhand J, Capocci S, Woodward S, Murray C, Cropley I, et al. Yield and cost effectiveness of mycobacterial infection detection using a simple IGRA-based protocol in UK subjects with inflammatory bowel disease suitable for anti-TNFalpha therapy. J Crohns Colitis. 2013;7(5):412-8.

67. Hatemi G, Melikoglu M, Ozbakir F, Tascilar K, Yazici H. Quantiferon-TB Gold in tube assay for the screening of tuberculosis before and during treatment with tumor necrosis factor alpha antagonists. Arthritis Res Ther. 2012;14(3):R147.

68. Ballaz A, Salinas C, Aguirre U, Lopez de Goicoechea MJ, Diez R, Egurrola M. [Analysis of discordance between tuberculin test and QuantiFERON-TB(R) Gold In-Tube in studies of contacts]. Med Clin (Barc). 2013;140(7):289-95.

69. Shahidi N, Fu YT, Qian H, Bressler B. Performance of interferon-gamma release assays in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. Inflamm Bowel Dis. 2012;18(11):2034-42.

70. Freeman HJ. Application of the Montreal classification for Crohn's disease to a single clinician database of 1015 patients. Canadian journal of gastroenterology = Journal canadien de gastroenterologie. 2007;21(6):363-6.

71. Roberto Victoria C, Yukie Sassak L, Nunes H. Incidence and prevalence rates of inflammatory bowel diseases, in midwestern of São Paulo State, Brazil2009. 20-5 p.

72. Aye Thi A, Abbara A, Bouri S, Collin S, Wolfson P, Owen L, et al. Challenges in screening for latent tuberculosis in inflammatory bowel disease prior to biologic treatment: a UK cohort study2018. flgastro-2017 p.

73. Ponce de Leon D, Acevedo-Vasquez E, Alvizuri S, Gutierrez C, Cucho M, Alfaro J, et al. Comparison of an interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detection of tuberculosis (TB) infection in patients with rheumatoid arthritis in a TB-endemic population. The Journal of rheumatology. 2008;35(5):776-81.

74. Mattos de Souza F, Nascimento do Prado T, Dos Santos Pinheiro J, Peres R, Carvalho Lacerda T, Borge Loureiro R, et al. Comparison of Interferon-γ Release Assay to Two Cut-Off Points of Tuberculin Skin Test to Detect Latent Mycobacterium tuberculosis Infection in Primary Health Care Workers2014. e102773 p.

75. J Qumseya B, Ananthakrishnan A, Skaros S, Bonner M, Issa M, Zadvornova Y, et al. QuantiFERON TB Gold Testing for Tuberculosis Screening in an Inflammatory Bowel Disease Cohort in the United States2011. 77-83 p.

76. Mantzaris GJ, Tsironikos D, Tzanetakou X, Grispou E, Karatzas P, Kalogeropoulos I, et al. The impact of immunosuppressive therapy on QuantiFERON and tuberculin skin test for screening of latent tuberculosis in patients with inflammatory bowel disease scheduled for anti-TNF therapy. Scand J Gastroenterol. 2015;50(12):1451-5.

77. Wong SH, Ip M, Tang W, Lin Z, Kee C, Hung E, et al. Performance of interferon-gamma release assay for tuberculosis screening in inflammatory bowel disease patients. Inflamm Bowel Dis. 2014;20(11):2067-72.

78. Puig Cardoso I, Almeida N, Rosa Gotardo D, Cardeal M, Santana G. Tuberculin skin testing in inflammatory bowel disease patients from an endemic area of Brazil, 2013.

79. Bocchino M, Matarese A, Bellofiore B, Giacomelli P, Santoro G, Balato N, et al. Performance of two commercial blood IFN-gamma release assays for the detection of Mycobacterium tuberculosis infection in patient candidates for anti-TNF-alpha treatment. European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2008;27(10):907-13.

80. Bermejo F, Algaba A, Chaparro M, Taxonera C, Garrido E, Garcia-Arata I, et al. How frequently do tuberculosis screening tests convert in inflammatory bowel disease patients on anti-tumour necrosis factor-alpha? A pilot study. Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver. 2013;45(9):733-7.

81. Lu P, Chen X, Zhu LM, Yang HT. Interferon-Gamma Release Assays for the Diagnosis of Tuberculosis: A Systematic Review and Meta-analysis. Lung. 2016;194(3):447-58.

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO
DISCIPLINA DE GASTROENTEROLOGIA E ENDOSCOPIA DIGESTIVA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr (a) estará participando de um estudo de Dissertação de Mestrado intitulado "Comparação entre o *Interferon-Gamma Release Assay* e o teste cutâneo tuberculínico para rastreio de tuberculose latente antes e durante a terapia anti-TNFα na doença inflamatória intestinal no Rio de Janeiro, Brasil".

Os pacientes com doença inflamatória intestinal (DII), DC ou retocolite ulcerativa são pacientes que precisam de tratamento por toda a vida já que possuem uma doença crônica. O tratamento consiste no uso de drogas que podem diminuir a imunidade e por isso esses pacientes podem ficar predispostos a inúmeras infecções. Um dos medicamentos usados para o tratamento das DII são drogas chamadas de imunobiológicos ou drogas anti fator de necrose tumoral α (anti-TNFα). Esses medicamentos vêm mudando o curso da doença, melhorando a qualidade de vida dos pacientes e diminuindo a chance do paciente vir a ser submetido a uma cirurgia. Portanto alguns pacientes com DII de atividade moderada ou grave vão necessitar iniciar esses remédios para o controle da sua doença.

Os anti TNFα (infliximabe e adalimumabe) podem aumentar o risco do paciente desenvolver uma TB, se ele já tiver sido exposto a essa bactéria no passado. Para evitar isso é fundamental realizar alguns exames que possam averiguar esse contato anterior com a bactéria responsável por produzir a TB.

Normalmente fazemos de rotina a radiografia do tórax e o teste de PPD. Este consiste na injeção intradérmica (injeção superficial na pele com agulha bastante fina) de um composto chamado tuberculina. Após 2 dias da injeção observa-se se houve reação da pele àquela injeção. Se a reação da pele (vermelhidão e endurecimento no local) for maior ou igual a meio centímetro, significa que o paciente não deve iniciar o tratamento com anti-TNFα imediatamente. Alguns pacientes em que o PPD foi negativo, o tratamento é iniciado mas ainda assim estes podem desenvolver TB. Para tentar diminuir esse risco estaremos neste estudo acrescentando outro método além do PPD. Este método chama-se IGRA e consiste na

retirada de amostras de sangue para serem enviadas ao laboratório e realização de análises específicas.

O objetivo do nosso trabalho é comparar PPD e o IGRA na tentativa de diminuir os riscos de desenvolvimento da TB nos pacientes com DII que precisam iniciar o tratamento com os imunobiológicos.

Os riscos desses procedimentos são mínimos como formação de pequeno hematoma no sítio de coleta do sangue (igual à coleta de sangue comum para exames) ou mesmo reação alérgica ao PPD que consiste em coceira na pele que pode ser tratada com medicamentos antialérgicos. De qualquer forma, este tipo de alergia é muito rara e a necessidade do teste é fundamental para o início do tratamento específico da DII.

Em caso de dúvidas, estaremos à disposição (Dra. Renata Amorim) na disciplina de Gastroenterologia e Endoscopia Digestiva do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE), Av. 28 de setembro, 77- Vila Isabel e nos telefones 23342421 / 28688654/ 28688258 ou, ainda, todas as quintas-feiras de 7h às 12h, no Ambulatório de Doenças Inflamatórias Intestinais na policlínica Piquet Carneiro, Av. Marechal Rondon, 381 – São Francisco Xavier - Setor de Gastroenterologia.

Você também pode ter informações sobre a pesquisa e tirar dúvidas junto ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, que está localizado no térreo do Hospital Pedro Ernesto, telefone: (21) 2868-8253, e-mail: cep-hupe@uerj.br.

A não participação neste trabalho não implicará em qualquer prejuízo ao seu acompanhamento e tratamento. As informações colhidas serão sigilosas e poderão contribuir para melhor entendimento de sua doença. Os resultados desta pesquisa serão publicados em revista nacional ou internacional sem qualquer identificação pessoal dos pacientes.

□ Li e concordo em participar do estudo.

Nome do paciente_____

Assinatura_____data_____

Investigador_____

Eu confirmo haver pessoalmente explicado, para o indivíduo acima identificado, a natureza, o propósito, a duração, os efeitos previsíveis e riscos do procedimento.

Assinatura_____ data_____

APÊNDICE B - Ficha de identificação, dados clínicos e laboratoriais

IDENTIFICAÇÃO:

PACIENTE: _____DN:___/___/___ SEXO: M ( ) F ( )
TELEFONE(S): _____REGISTRO PPC:_____ RAÇA _____

CARACTERÍSTICAS DA DOENÇA: DC ( ) RCUi ( ) CONTROLE ( )

Ano do diagnóstico:_____ Fenótipo: B1 ( ) B2 ( ) B3 ( )
Extensão: L1 ( ) L2 ( ) L3 ( ) L4 ( ) E1 ( ) E2 ( ) E3 ( ) p ( ) OUTROS_____
Cirurgia(s) prévia _____
Imunossupressão: S ( ) N ( ). Se sim, descrever:_____
Uso de biológico: S ( ) N ( ). Se sim, descrever qual e o ano de início: _____
Tabagismo atual ou anterior (maços-ano): S ( ) N ( )_____
Vacinação para BCG: S ( ) N ( ). Se sim, quantas cicatrizes: 0 ( ) 1 ( ) 2 ( )
Contato com bacilífero: S ( ) N ( ). Se sim, grau de parentesco:_____
Comorbidades: _____
Medicamentos outros: _____

CARACTERÍSTICAS LABORATORIAIS:

LAB (data:___/___/___):
Hg/ Ht:_____Leucograma (linfócitos):_____ Alb:_____
VHS:_____ PCR_____

TESTES DE TRIAGEM:

PPD: não reator ( ) reator ( ). Se reator, valor em mm: _____
IGRA: negativo ( ) positivo ( ) indeterminado ( )
Radiografia de tórax: _____

DESFECHO:

Tuberculose: S ( ) N ( ). Se sim, qual a localização e o tempo do inicio do biológico (m):___

ANEXO A - Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
PEDRO ERNESTO/
UNIVERSIDADE DO ESTADO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Rastreio da tuberculose latente em pacientes com doença inflamatória intestinal e terapia biológica: PPD x IGRA.

Pesquisador: RENATA FERNANDES DE AMORIM

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 34227414.4.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 998.681

Data da Relatoria: 02/12/2014

Apresentação do Projeto:

Pacientes com doença inflamatória intestinal (Doença de Crohn e Retocolite Ulcerativa) que são imunossuprimidos pela doença, ou pelo uso de medicações para o seu tratamento, como corticosteróides e azatioprina, apresentam maior risco de desenvolver infecção latente da tuberculose ao iniciar o uso de anti-TNFalfa. O método atualmente disponível para detecção da infecção latente (PPD) apresenta baixa sensibilidade e especificidade, já que a maioria da população têm o antígeno vacinal. O IGRA (Interferon-GAMA Release Assay), por ser um método mais específico para Micobacterium tuberculosis, surge uma potencial alternativa para rastreamento desses pacientes.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a concordância do PPD e do IGRA no rastreio da tuberculose latente em pacientes com DII antes de iniciar a terapia biológica e após 6 meses deste tratamento.2- Avaliar a concordância do PPD e do IGRA no rastreio da tuberculose latente em um grupo de pacientes com DII em uso da terapia biológica há mais de 6 meses.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos inerentes ao estudo são mínimos, relacionados aos dos métodos diagnósticos estudados: 1 - PPD: alergia cutânea 2 - coleta de sangue: hematoma no local de punção,

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br

necessidade de múltiplas punções.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto na área de diagnóstico, sem intervenção. Todos os documentos de apresentação obrigatória foram encaminhados a este Comitê.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE com texto mais compreensível pelo paciente, com formatação mais adequada. Foram analisadas as documentações e as mesmas se encontram dentro das normas.

Projeto sem intervenção, sem riscos relevantes.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O trabalho pode ser realizado da fora como está apresentado. Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº466/2012, o projeto pode ser enquadrado na categoria – APROVADO.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente, o CEP recomenda ao Pesquisador: 1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas. 2. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 3. O Comitê de Ética solicita a V. Sª., que encaminhe relatórios parciais e anuais referentes ao andamento da pesquisa ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
PEDRO ERNESTO/
UNIVERSIDADE DO ESTADO

Continuação do Parecer: 998.681

RIO DE JANEIRO, 25 de Março de 2015

Assinado por:
MARIO FRITSCH TOROS NEVES
(Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br

ANEXO B - Classificação de Montreal para DC e RCUi

Classificação de Montreal para DC

Idade do diagnóstico (A)	**A1**	**≤ 16 anos**	
	A2	17-40 anos	
	A3	≥ 40 anos	
Localização (L)	L1	Íleo terminal	L1 + L4
	L2	Cólon	L2 + L4
	L3	Ileocolônica	L3 + L4
	L4	Trato gastrointestinal superior	
Comportamento (B)	B1	Não estenosante / não penetrante	B1p
	B2	Estenosante	B2p
	B3	Penetrante	B3p

p: doença perianal

Classificação de Montreal para RCUi

Extensão	**Anatomia**
E1-Proctite ulcerativa	Extensão da inflamação até a porção distal da junção retossigmóide
E2- RCU do lado esquerdo	Inflamação até a flexura esplênica
E3- RCU extensa	Inflamação além da flexura esplênica