



MARCIA DINIZ

AVALIAÇÃO CLÍNICA E IMUNOLÓGICA DE PACIENTES COM
TUBERCULOSE REFRATÁRIA AO TRATAMENTO

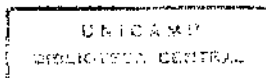
Dissertação apresentada ao Instituto de
Biologia - UNICAMP para obtenção do título de
Mestre em Imunologia.

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato(a)
Marcia Diniz
e aprovada pela Comissão Julgadora. Campinas, 16/12/92

ORIENTADORA: Profª Dra. Maria Marluce dos Santos Vilela.

CAMPINAS - SP

1992



Aos pacientes tuberculosos, razão de ser deste
trabalho.

A Jorge,
Sílvia e Eduardo.

AGRADECIMENTOS

- A Profª Drª Maria Marluce dos Santos Vilela, pela dedicação, competência e seriedade.
- A Profª Drª Denise Norato, pelo assessoramento da parte estatística.
- A Drª Verônica Araújo Zanardi e Drª Elisa de Brito Pacheco, profas assistentes do Departamento de Radiologia HC-UNICAMP, pela elaboração de laudos e estadiamento radiológicos.
- A Drª Emília Emiko Hieda Takahashi, médica do Laboratório de Imunologia do Departamento de Patologia Clínica HC-UNICAMP, pelo apoio e colaboração na realização dos exames subsidiários.
- A bióloga Elizabete M. Cambiucci, pelos ensinamentos práticos, pela grande dedicação ao trabalho e amizade.
- A todos os docentes e médicos da Disciplina de Pneumologia do Departamento de Clínica Médica do HC-UNICAMP, pela imprescindível colaboração no acesso aos pacientes com tuberculose resistente, que tornou possível a realização deste trabalho.
- A equipe paramédica do setor de Procedimentos Especializados da Pneumologia, em especial à enfermeira Anália Zuleika de Castro, pela preciosa colaboração na coleta de exames.
- A Drª Maria Inês O. Shultz e sr. Werner Shultz, pelo estímulo e amizade, e por ter tornado possível a leitura de lâminas em Sta. Bárbara D'Oeste.

- A Dra. Gisele Nunes Ionezawa, médica da Disciplina de Pneumologia do Dpto. de Clínica Médica do HC-UNICAMP, pela participação na elaboração do estadiamento radiológico.

ÍNDICE

I	-	INTRODUÇÃO.....	1
II	-	METODOLOGIA.....	32
III	-	RESULTADOS.....	45
IV	-	DISCUSSÃO.....	75
V	-	RESUMO E CONCLUSÕES.....	89
VI	-	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	92
VII	-	APÊNDICE.....	109

I — INTRODUÇÃO

I. Introdução:

A tuberculose é uma doença infecto-contagiosa causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, que apresenta evolução crônica e elevada morbidade e mortalidade quando não tratada. Várias situações tem sido relacionadas com uma maior incidência e/ou evolução desfavorável: extremos etários, desnutrição, promiscuidade, cor negra, alcoolismo, exposição ocupacional (médicos e paramédicos), corticoterapia prolongada, quimioterapia antineoplásica, diabetes melito, neoplasias, silicose, gastrectomia e a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) (Corrêa da Silva, 1991).

Outras micobactérias raramente causam doença semelhante. A infecção pelo *M.bovis* é incomum após o advento da pasteurização do leite e abate de gado infectado. As micobactérias atípicas raramente são patogênicas para a espécie humana. Atualmente, prefere-se o uso do termo "micobacteriose" para tais situações, as quais podem ser observadas em indivíduos imunodeprimidos.

A tuberculose pode apresentar-se sob forma pulmonar ou extra pulmonar. Neste trabalho nos deteremos sobre a primeira forma, que é a mais comum.

Lesões características de tuberculose óssea em humanos foram encontradas na Alemanha do período de 8.000 anos AC, no Egito do período 2.500-1.000 anos AC, e a descrição da doença também é encontrada em documentos hindus e chineses (Dubos & Dubos, 1952). Há também evidências de que já acometia nativos americanos por ocasião do descobrimento (Grigg, 1958).

Na atualidade, a tuberculose é um sério problema de saúde pública. Estima-se que adoeçam, por ano, 10 milhões de pessoas no mundo, e que aproximadamente 3 milhões de óbitos sejam causados por ela (Organização Panamericana de Saúde - Organização Mundial de Saúde (O.P.S - OMS) - 1987). A persistência dessa moléstia até a sociedade atual é explicada por seu caráter crônico, que proporciona amplos períodos para sua transmissão, e pelo fato do bacilo ter a propriedade de persistir em forma viável por muitos anos no indivíduo (Tarantino,1982; Corrêa da Silva, 1991).

A sua distribuição geográfica está intimamente relacionada à situação sócio-econômica das diversas nações. Assim, o número de casos encontrados na Europa, América do Norte e Oceania são bem inferiores aos existentes na Ásia, África e América do Sul.

A avaliação epidemiológica da tuberculose é feita através dos indicadores de incidência, mortalidade e risco de infecção tuberculosa. Segundo dados da O.P.S. / OMS (1987), o Brasil apresentou, no período de 1980 / 1984, uma incidência de 51 a 100 casos de tuberculose pulmonar para cada 100.000 habitantes, ficando no 32 grupo, de uma classificação de 1 a 4 ,quanto à incidência. A taxa de mortalidade foi de 5 a 9.9 casos para cada 100.000 habitantes.

A heterogeneidade sócio-econômica nas diferentes regiões de nosso país justifica os resultados obtidos para uma tendência de redução da tuberculose pulmonar no Brasil como um todo, embora em alguns estados tenha sido observada uma elevação do número de casos, no período de 1981 - 1987 (Boletim da Campanha Nacional contra a tuberculose, 1988).

A mortalidade declinou no período de 1977 à 1984 em 5,7% ao ano, em termos nacionais.

O risco de infecção é um outro índice importante, e que atinge níveis de no máximo 0,3% em países desenvolvidos. No Brasil, segundo fontes do Ministério da Saúde (Divisão Nacional de Pneumologia Sanitária), foi encontrado um risco de infecção de 0,7%, em 1987.

Assim, apesar dos progressos relativos obtidos no controle da doença (diminuição da incidência e mortalidade), os nossos índices estão muito longe dos observados em países desenvolvidos.

Cumpra-se notar ainda que a porcentagem de falência terapêutica encontrada em 10.936 casos tratados com esquema curto, foi de 1,7% (Boletim da Campanha Nacional contra a Tuberculose, 1987).

A principal via de transmissão é a inalatória. Durante a respiração normal, o ar expirado está isento do bacilo de Koch (BK), porém durante o espirro, a tosse e o ato de falar, pode ser expelido um número variável de partículas, com grande velocidade. O aerossol assim formado constitui-se aproximadamente de 60% de partículas entre 50 e 100 micra, 30% entre 5 e 50 micra, e 10% menores que 5 micra. As partículas menores (1 à 5 micra) permanecem suspensas no ar indefinidamente, e tem a capacidade de penetrar pela árvore respiratória de outro indivíduo até o alvéolo, escapando do sistema de depuração mucociliar.

Existem fatores de grande importância na determinação do grau de infectividade de cada caso:

- a. Número de bacilos contidos em lesões pulmonares: Através do aspecto morfológico das lesões radiológicas pulmonares e pela baciloscopia direta do escarro pode-se estimar a população de micobactérias . Foi demonstrado por Canetti (1965) que o número de bacilos encontrados em lesões nodulares sem escavação atingia a faixa de 10^2 - 10^4 organismos, enquanto que as lesões cavitárias continham entre 10^7 a 10^8 bacilos. Assim, pacientes com lesões cavitárias apresentam maior potencial de infectividade.

Outra forma de estimar a população bacilífera consiste no exame direto do escarro. Sabe-se que são necessários 5.000 a 10.000 organismos/ml de escarro para que sejam vistos bacilos álcool-ácidos resistentes (BAAR) à coloração de Ziehl Neelsen, conforme verificação de Yager e col. 1967 e Hobby e col. 1973.

- b. Uso de quimioterapia: Os pacientes com baciloscopia positiva, mas em uso de medicação antituberculosa apresentam menor poder de infectividade (Sultan e col. 1960; Riley e col. 1962).

Deve-se salientar porém que os indivíduos que coabitam com o paciente bacilífero, ou que convivem em ambientes fechados são os mais susceptíveis à infecção pela tuberculose .

A prevenção da disseminação da tuberculose exige diagnóstico rápido e preciso, início imediato de quimioterapia, e pesquisa da doença entre os contactantes, principalmente nos casos com

baciloscopia positiva. A quimioprofilaxia é muito importante, sendo recomendada pelo Ministério da Saúde em casos com viragem de mantoux recente, em recém nascidos de mães bacilíferas, e em indivíduos infectados (reator forte ao PPD ou com tratamento prévio) que façam uso de terapia imunossupressora.

A aplicação da vacina B.C.G. intradérmica proporcionou resultados muito controversos . No grande estudo realizado no Sul da Índia (Chingleput), não foi observado nenhum grau de proteção quanto ao aparecimento da infecção. Porém, o início da doença foi retardado , e houve proteção significativa para as formas graves, como a neurotuberculose (Corrêa da Silva, 1991).

O diagnóstico de tuberculose pulmonar é sugerido pela associação de achados clínico-radiológicos compatíveis (expostos adiante), mas só pode ser confirmado com o achado do *M. tuberculosis* ao exame de material orgânico (escarro, urina, lavados brônquico e gástrico, secreção vaginal, liquor céfalo-raquidiano, peça de biópsia). Rotineiramente, o primeiro exame a ser realizado é a baciloscopia direta, sob a coloração de Ziehl-Neelsen. Este método não diferencia os diferentes tipos de micobactérias, mas é de rápida execução e possibilita o início do tratamento.

A identificação do *M.tuberculosis* é obtida através da cultura para micobactérias, que tem indicação em casos com suspeita clínica e baciloscopia negativa (indivíduo paucibacilar, com eliminação de menos que 5.000 bacilos/ml de escarro), ou quando a negatificação da baciloscopia não se verifica após o primeiro mês de tratamento. Nesses casos, a diferenciação com micobacteriose é fundamental.

O exame histopatológico de tecido pulmonar, e/ou cultura de fragmento de biópsia também conferem diagnóstico de certeza. Esta avaliação é útil e justificável em casos excepcionais, para o diagnóstico diferencial com as neoplasias pulmonares.

Cumpre-se notar que a realização de biópsias é também justificável para o diagnóstico de tuberculose extrapulmonar, uma vez que a positividade para o achado do bacilo em secreções é baixa (urina, pus de cavidade, líquidos céfalo-raquidiano, pleural, ascítico e sinovial).

As manifestações clínicas da tuberculose pulmonar são bastante variadas, e dependem de vários fatores.

Quando o bacilo alcança o alvéolo, há ocorrência de reação inflamatória local, com formação do chamado cancro de inoculação ou nódulo de Gohn. Essa lesão pode ser visualizada radiologicamente como pequeno nódulo denso, frequentemente já acompanhado de reação linfática local e aumento de gânglio regional, constituindo o segundo componente da lesão primária (adenopatia - satélite). O termo primoinfecção é utilizado para esses eventos em indivíduos que nunca tiveram contato com o bacilo da tuberculose. A evolução para o quadro clínico de doença pode ocorrer subsequentemente à primoinfecção ou após um período de latência (tuberculose pós primária ou de reinfecção).

Na maioria dos casos o complexo primário evolui para cura. Quando isso não ocorre, haverá progressão para lesão pulmonar de gravidade

variável. Conforme revisão de Tarantino, 1982, a tuberculose primária pode apresentar as seguintes manifestações:

- A. "Febre de invasão" - Verificada por ocasião das duas primeiras semanas, com resolução espontânea.
- B. Viragem tuberculínica - geralmente ocorre ao final do período febril.
- C. Cancro de inoculação isolado - verificado pela presença de pequeno nódulo denso em campos pulmonares ao raio-X (Rx) de tórax.
- D. Tísica primária - complicação grave da infecção primária, acontecendo quando o material do nódulo ou do gânglio tuberculoso se liquefaz e há drenagem de material caseoso pela árvore brônquica, disseminando-se por essa via à outros locais do pulmão.
- E. Adenopatia hilar isolada - ocorre quando o polo pulmonar não é visível radiologicamente. Pode causar sintomatologia decorrente de obstrução brônquica (atelectasias, pneumonias de repetição).
- F. Complexo primário bipolar - nesta forma o complexo primário apresenta-se com a imagem bipolar, 'em halteres'.
- G. Forma tumoral da adenopatia tráqueo-brônquica - corresponde às formas mais graves, com volumosas hipertrofias traqueobronquiais ou disseminação hematogénica.

- H. Disseminação hematogénica (tuberculose miliar) - sempre ocorre no decorrer da tuberculose primária e tanto pode passar despercebida como causar insuficiência respiratória e até óbito.
- I. Pleuris serofibrinoso - é consequência da passagem de bacilos do foco pulmonar ou ganglionar diretamente para a cavidade pleural.
- J. Constelação primária - usa-se este termo quando há disseminação hematogénica para diversos órgãos (pele, ossos, rins, aparelho genital, globo ocular, gânglios linfáticos, sistema nervoso central (SNC), etc).

Com a resolução do complexo primário, o indivíduo pode continuar com bacilos quiescentes no interior de macrófagos sem nunca desenvolver a doença. No entanto, esses bacilos podem sair da latência e voltar a se multiplicar, levando à disseminação hematogénica. Essa última, por sua vez, pode acontecer tanto para o pulmão como para qualquer outro órgão (pele, gónadas, ossos, rins, SNC, supra-renal, etc).

Na tuberculose pós-primária os sintomas dependem do local da lesão. Assim, o indivíduo com cavitações pulmonares e consequente drenagem bronquial apresenta expectoração intensa, às vezes acompanhada de laivos de sangue ou sangramento vivo. O rompimento da lesão (granuloma com conteúdo caseoso) para dentro do brônquio pode levar à disseminação broncogénica súbita, podendo inclusive cursar com insuficiência respiratória. A dor pleural acontece quando há

acometimento desta serosa, e geralmente precede o aparecimento de derrame.

As queixas clínicas inespecíficas de febre vespertina, emagrecimento e adinamia estão sempre presentes com a doença em atividade.

Nesta fase, os achados radiológicos mais frequentes são (conforme revisões de Tarantino, 1982, e Corrêa da Silva, 1991) :

Infiltrado precoce - é a forma mais comum, com lesões principalmente em áreas infraclaviculares, que frequentemente evoluem para escavação.

Tuberculose hematogênica tardia - consequente à ruptura de lesão caseosa em vaso sanguíneo, similar à tuberculose miliar após infecção primária. O Rx de tórax apresenta opacidades heterogêneas, de padrão intersticial, com lesões micronodulares características.

Pneumonia - a pneumonia caseosa mostra imagens radiológicas de densidade homogênea com broncograma aéreo, e resulta da existência de fistula gânglio-brônquica.

Tuberculoma - lesão nodular, por vezes escavada, que pode ter calcificações em seu interior e pequenas lesões satélites.

Derrame pleural - deve-se à ruptura de pequeno foco subpleural. Ao Rx de tórax visualiza-se imagem de densidade homogênea de partes moles (o líquido pleural), que segue a disposição do espaço pleural.

Hopewell, em sua revisão de 1990 relata as seguintes alterações laboratoriais em pacientes com tuberculose em atividade: leucocitose e anemia em 10% dos casos; aumento no número de monócitos e eosinófilos no sangue periférico; pancitopenia consequente à invasão de medula óssea (sua ocorrência é rara); hiponatremia, encontrada em 11% dos pacientes, causada pela produção de substância similar ao hormônio anti-diurético (ADH), produzida por parênquima pulmonar afetado; efeitos neuropsicológicos (no período pré-quimioterapia são observados muitos casos de depressão associada à atividade da tuberculose).

Na tuberculose pulmonar, vários parâmetros foram sugeridos para a avaliação da gravidade de cada caso.

Três proposições são expostas abaixo, tendo-se por base aspectos clínicos, imunológicos e radiológicos.

Lenzini, Rottoli & Rottoli (1977) propõem uma classificação semelhante à usada na lepra, onde critérios clínicos e imunopatológicos definem quatro categorias distintas:

- 1.) RR ou tuberculo-reator (*Reactive*) - neste grupo situam-se os casos com lesões micronodulares que respondem bem à terapia. Os granulomas encontrados contêm grande número de linfócitos e células epitelióides com poucos bacilos detectáveis.
- 2.) UU ou tuberculo não reator (*Unreactive*) - acontece nos casos de tuberculose miliar, com infiltrado inflamatório consistindo predominantemente de macrófagos, e com grande número de bacilos.

3.) R1 ou reator intermediário (*Reactive intermediate*) - apresentação de tuberculose localizada com forma nodular ou micronodular, com cavitação e adenopatia.

4.) U1 ou não reator intermediário (*Unreactive Intermediate*)- lesão micronodular ou nodular crônica difusa, associadas à cavitação, fibrose e linfadenopatia.

A gravidade é maior na classificação não reator, e menor no bom reator, passando pelos tipos intermediários.

A fórmula abaixo expressa os diversos fatores influentes na gravidade da doença (Rich, 1946):

$$L = \frac{V \times N \times H}{R (N + A) \times F}$$

Assim, a extensão da lesão pulmonar (L) é diretamente proporcional à virulência do bacilo (V), ao número de bacilos presentes (N) e à hipersensibilidade do indivíduo (H). É inversamente proporcional à resistência natural ou adquirida ((R (N+A))), e à ação de fármacos (F). Evidentemente, quanto maior a extensão da lesão, maior a gravidade.

O estadiamento radiológico proposto por Kardjito & Grange, (1980), utiliza a extensão do acometimento pulmonar para avaliar a gravidade da doença. A caracterização proposta é a seguinte:

- I. Acometimento mínimo - a extensão total da doença não envolve área pulmonar maior que a compreendida acima da 2ª junção condroesternal e a espinha da 4ª vertebra torácica.
- II. Moderadamente avançado - lesões densas e confluentes que não excedem 1/3 do volume de 1 pulmão; lesões não confluentes de densidade pequena ou moderada que não excedem a área de 1 pulmão.
- III. Muito avançado - acometimento mais extenso que II.

Uma falha nesta classificação de gravidade é que o autor não deixa claro se a imagem radiológica é uni ou bilateral no estadio I.

Quanto ao tratamento, a primeira droga efetiva contra a tuberculose teve seu aparecimento em 1944 (estreptomicina). Houve então grande expectativa quanto à cura e controle dessa moléstia tão antiga, mas observou-se após algum tempo que o uso de monoterapia levava ao desenvolvimento de bacilos resistentes à droga (Stead & Lutt, 1982). Em 1949, notou-se que a associação com o PAS (ácido para amino-salicílico) diminuía o aparecimento de resistência. A ação tuberculostática da nicotínamida foi descoberta em 1945, e o estudo de seus compostos correlato tornou possível o conhecimento da importante atividade antituberculosa da isocotinil-hidrazida (isoniazida) (Goodman & Gilman, 1981).

Com o conhecimento crescente das características do *M. tuberculosis*, novos esquemas de associação foram propostos.

As principais peculiaridades do *M.tuberculosis* à serem consideradas para uma quimioterapia eficaz são:

1. Existência de distintas populações, num mesmo hospedeiro, com diferentes tempos de duplicação, (rápida, lenta, intermitente, ou quiescente). Esta velocidade de multiplicação está na dependência da sua localização, e consequentemente, da oferta de nutrientes e tensão de oxigênio que o bacilo encontra. Sob condições ótimas, o bacilo divide-se à cada 16 - 20 h, determinando o caráter crônico da infecção.

Estas populações de bacilos podem ser encontradas em diferentes locais:

- a. No material caseoso liquefeito que cobre a parede da escavação do parênquima pulmonar. Esta população multiplica-se rapidamente em pH neutro, explicando o elevado número de bacilos neste local (10^7 à 10^9).
 - b. No macrófago, onde o pH é ácido e leva à uma multiplicação lenta. O número de bacilos não excede 10^4 à 10^3 .
 - c. No material caseoso sólido, onde a presença de substâncias tóxicas dos tecidos e a baixa tensão de oxigênio favorecem a multiplicação lenta ou intermitente dos bacilos, com população menor que 10^5 organismos.
2. A presença de mutantes resistentes é verificada nas populações bacilares de um mesmo hospedeiro, em número de 1 para 10^5 para isoniazida (INH), e 1 x 10^6 para rifampicina (RMP). A

resistência às drogas é independente, e a incidência de resistência à 2 drogas é da ordem 1 para 10^{11} (Corrêa da Silva, 1991).

Clinicamente o tratamento da tuberculose compreende duas fases: a de ataque e manutenção.

A fase de ataque objetiva alcançar diminuição rápida e extensa da população de micobactérias existentes nas cavidades, sem permitir a sobrevida de mutantes resistentes.

A existência de bacilos intracelulares e em lesões caseosas fechadas obriga o prolongamento da terapia para evitar reativação da doença na fase de manutenção.

Os esquemas de tratamento preconizados atualmente pelo Programa Nacional de Combate à Tuberculose estão esquematizados nos quadros I, II e III. Na maioria dos casos há o uso de esquema tríptico durante dois meses (associação de isoniazida (INH), rifampicina (RMP) e pirazinamida (PZA)), e esquema duplo do terceiro ao sexto mês (apenas as duas primeiras drogas). A eficácia deste tratamento está bem documentada na literatura (Snider & col, 1984; Geiter & col, 1986). No esquema III utiliza-se estreptomicina (SM), etambutol (EMB), etionamida (ETH) e pirazinamida durante os 3 meses iniciais, prosseguindo-se o uso de EMB e ETH por mais 9 meses, até completar 12 meses de tratamento.

Praticamente todos os medicamentos tuberculostáticos podem ser hepatotóxicos. Constituem-se em fatores de risco para hepatotoxicidade o uso de anticonvulsivamente, uso de halotano, mau estado geral,

hepatopatia aguda recente ou crônica, e lesão hepática tuberculosa difusa (consequente à disseminação hemática). A inativação da isoniazida é processada no fígado, e sua capacidade é determinada geneticamente, por um par de genes autossômicos (revisto por Garlipp, 1980). O reconhecimento dos acetiladores lentos e rápidos da isoniazida tem grande importância prática. Os indivíduos submetidos ao uso contínuo de isoniazida que forem acetiladores lentos tem probabilidade 6 vezes maior do que os rápidos de manifestar reações tóxicas, geralmente traduzidas por neurite periférica (Beiguelman e col., 1977).

QUADRO I: Esquema de tratamento indicado em todas as formas de tuberculose pulmonar e extra-pulmonar (exceto meningite tuberculosa) (Esquema I).

		Peso / dose diária			
Fase do Tratamento	Drogas	até 20 kg mg / kg	até 35 kg mg	até 45 kg mg	mais 45 kg mg
1ª (2 meses)	RMP	10	300	450	600
	INH	10	200	300	400
	PZA	35	1000	1500	2000
2ª (4 meses)	RMP	10	300	450	600
	INH	10	200	300	400

FONTE: Manual de Normas para o Controle da Tuberculose - DNPS/MS-1984.
Abreviaturas: RMP-Rifampicina; INH-Isoniazida; PZA-Pirazinamida;

QUADRO II - Esquema de tratamento da meningite tuberculosa (Esquema II).

		Dosagem	
Fases do Tratamento	Drogas	Diária mg / kg	Máxima mg / dia
1ª (2 meses)	RMP	20	600
	INH	20	400
	PZA	35	2000
2ª (4 meses)	RMP	20	600
	INH	20	400
3ª (6 meses)	INH	10	400

FONTE: Manual de Normas para o Controle da Tuberculose - DNPS/MS-1984.

QUADRO III - Esquema Indicado nos casos de falência de tratamento (Esquema III).

Fase do Tratamento	Drogas	Peso / dose diária			
		até 20 kg	até 35 kg	até 45 kg	mais 45 kg
		mg / kg	mg	mg	mg
1ª (3 meses)	SM	20	500	1000 *	1000 *
	ETH	12	250	500	750
	EMB	25	600	800	1200
	PZA	35	1000	1500	2000
2ª (9 meses)	ETH	12	250	500	750
	EMB	25	600	800	1200

FONTE: Manual de Normas para o Controle da Tuberculose - DNPS/MS-1984.

* Nos doentes maiores de 60 anos a SM deve ser administrada na dose máxima de 750 mg/dia.

Abreviaturas: SM - estreptomicina; ETH - etionamida; EMB - etambutol.

Define-se por falência de tratamento o caso que apresentar persistência de baciloscopia positiva após o quinto mês de tratamento, ou reaparecimento de exame positivo (baciloscopia ou cultura), após um período de negatificação.

Em 1980, Crofton mencionou os seguintes fatores causais de falência de tratamento:

1. Ausência de drogas agindo sobre o bacilo por:
 - a. Não ingestão de medicamentos pelo paciente, ou uso irregular.
 - b. Não assimilação adequada da droga.
 - c. Inexistência de níveis terapêuticos da droga ao nível das lesões (fibrose extensa prejudicando biodisponibilidade).

2. Resistência bacteriana primária ou secundária.
3. Duração de tratamento muito curto para eliminação ou diminuição adequada de bacilos.
4. Gravidade da infecção: apesar de haver sensibilidade aos fármacos, o controle da doença pode não ser alcançado por haver um grande comprometimento no momento do diagnóstico, e o paciente evoluir para o óbito antes que haja tempo para as drogas atuarem.
5. Intolerância medicamentosa.

Além destas causas, a terapia ou doença imunossupressoras concomitantes podem contribuir para a ineficácia do tratamento.

IMUNOPATOLOGIA :

Na interação *M.tuberculosis* - hospedeiro, é fundamental considerarmos as características microbiológicas do bacilo e o papel do sistema imune.

O bacilo da tuberculose é aeróbico estrito, não produz toxinas, não é móvel, e possui espessa membrana lipofílica. Tem crescimento lento, com tempo de reprodução em torno de 18 horas, e sua visualização em meio de cultura leva, usualmente, de 4 à 6 semanas. É rapidamente morto por calor e secagem, luz solar e raios ultra-violeta.

Goren (1982) descreveu a superfície externa da micobactéria como sendo constituída predominantemente por lípidos e carboidratos. No modelo para membrana e parede celular da micobactéria proposto por Minnikin (1982) e modificado por Draper (1986), moléculas de arabinomanon e peptidoglican formam uma rede de cadeias ramificadas em terceira dimensão e há interação entre lípidos complexos e o arabinogalactam ligado à cadeias de ácidos micólicos. A topografia da parede é especulativa, e a natureza de cada interação não foi demonstrada experimentalmente.

Em meio de cultura com suprimento de carbono orgânico (glicerol, glucose, etc), nitrogênio inorgânico (NH_4^+) e elementos inorgânicos usuais (Mg^{2+} , SO_4^{2-} , K , PO_4^{3-} e Fe^{3+}), a própria micobactéria sintetiza proteínas. No entanto, a nutrição intracelular pode ser realizada através da assimilação de moléculas pré-formadas pelo hospedeiro. Em circunstâncias extremas, a célula parasitada pode catabolizar substrato para prevenir o crescimento do parasita (Wheeler & Ratledge, 1986).

Algumas peculiaridades de metabolismo possibilitam a sobrevivência intracelular, como a produção de catalase e dismutase do superóxido, que destroem a peroxidase e metabólitos tóxicos de oxigênio. A capacidade de inibição da fusão do lisossomo com o fagossomo é um importante mecanismo de escape (Lowrie & Andrew, 1988).

A micobactéria, como outras células, requer Fe para várias atividades essenciais (enzimas, citocromos, etc) e conta com algumas dificuldades para sua utilização, pela existência predominante de Fe III (insolúvel em água) no meio externo. Após a obtenção, a estocagem

do mesmo à nível intracelular se dá através das proteínas exochelina (extracelular) e micobactina (intracelular).

Já foi demonstrada imunorreatividade para lípidos, polissacarídeos e proteínas encontrados em parede celular e citoplasma do *M.tuberculosis*. Alguns destes componentes são imunossupressores, enquanto outros levam à formação do granuloma, ativação do macrófago, toxicidade ao hospedeiro e à ação adjuvante (Collins, 1982; Chaparras, 1982).

a) Constituintes antigênicos:

Proteínas:

Os primeiros estudos para determinação da composição antigênica da tuberculina foram realizados por Seibert, em 1928. Esta pesquisadora realizou o fracionamento químico de um extrato obtido a partir de cultura inativada pelo calor, em 1949, conseguindo 4 proteínas distintas e 2 polissacarídeos.

Posteriormente, utilizando-se a imunoeletroforese no estudo dessas proteínas, foi proposto por Janicki e col. (1971) o sistema de referência U.S. - Japan. Comparações realizadas por Daniel e Affronti (1973), entre as frações antigênicas encontradas por Seibert e as proteínas do sistema de referência U.S. - Japan, revelam semelhanças e diferenças entre as mesmas, conforme quadro IV:

QUADRO IV - Antígenos de Micobactérias e Propriedades Imunológicas.

Fracionam/to de Seibert	Sistema U.S.Japan	Natureza Bioquímica	Fonte	Propriedades imunológicas
A	1,2,5,6,4,7	Proteína polissaca- rídeo	Parede celular, Filtrado de cultura	RHR, imunogenicidade
B	1,2,5,6,7	Proteína polissaca- rídeo	Parede celular, Filtrado de cultura	RHR, imunogenicidade Inibição de macrófagos
C	2,6,7,dois antígenos anodais	Proteína polissaca- rídeo	Parede celular, Filtrado de cultura	RHR(fraca) imunogenicidade
Polissa- carídeo I	1,2,um antígeno anodal	Arabinomanon arabinoga- lactan	Parede celular,	RHR? Fixação de complemento Hipersensibili- dade Tipo I
Polissa- carídeo II	3	Glucana proteína	Parede celular, Ribossomos	Atividade soro- lógica Hipersensibili- dade Tipo I, RHR, antígeno inibidor de macrófagos
		Peptídeos	Parede celular, citoplasma	RHR, Hapteno, Atividade soro- lógica
		Lípides: Fosfolípidos (Cardiolipi- na, PIMX)	Parede celular, membrana celular	Atividade soro- lógica
		Glicolípide (fator corda, sulfolípidos)	Parede celular	Produção anti- corpos inibe fusão li- sossomal
		Glicolípide D	Parede celular	RHR, atividade sorológica adjuvante

FONTE: Edwards & Kirkpatrick, 1986

* RHR= Reação de hipersensibilidade tardia.

PIMx= Fosfatidil-inositol-monomanosídeos (onde x indica o número de resíduos de manoses).

Polissacarídeos:

A atividade sorológica aos polissacarídeos pode ser um importante meio diagnóstico. A composição dos mesmos está resumida no QUADRO IV, e originam-se predominantemente das paredes celulares. Estes polissacarídeos desenvolvem pouca ou nenhuma hipersensibilidade cutânea tardia, e o arabinomanon parece ter propriedades imunossupressoras (Daniel & Janicki, 1978).

Lipídios:

São encontrados no citoplasma e principalmente na parede celular (ácidos micólicos, fosfolípidos, micosídeos, glicolípido D e outros glicolípidos)(Young, 1988). Apresentam potencialidade para desenvolvimento de toxicidade ao hospedeiro e imunorreatividade (Goren, 1982). O fator corda e os sulfatídeos estão associados à virulência do bacilo da tuberculose.

O fator corda recebe esta denominação pelo arranjo serpentiforme que apresenta. A associação entre a morfologia e a virulência foi constatada por diversos autores: Koch, Maximow, Mildrebook e Pierce (revisto por Youmans, 1979). O fator corda induz a formação do granuloma (Bekierkunst e col, 1969), que provavelmente é secundária à quimiotaxia e estimulação de macrófagos (Ofec, & Bekierkunst, 1976; Kelly 1977; Yarkoni, Wang & Bekierkunst 1977). Tem ainda a capacidade

de ativação da via alternativa do complemento (Ramanathan, Curtis, & Turk, 1980).

Os sulfatídeos impedem a fusão do lisossomo com o fagossomo, evitando assim o processamento e a apresentação de determinantes antigênicos do bacilo. A ação de sulfatídeos e fator corda em conjunto levam a uma progressão da doença por possibilitar a permanência cada vez maior de micobactérias intracelulares. Além disso, o fator corda tem ação lesiva sobre o parênquima pulmonar (Youmans, 1979).

Outros lípides parecem atuar como adjuvantes: fosfatidilinositol-monomanosídeos, oligomanosídeos (Edwards & Kirkpatrick, 1986), glicolípide D (Goren, 1982).

b) A resposta imune:

A reação inflamatória que ocorre *in vivo* após a infecção pelo *M. tuberculosis* é desconhecida. Estudos experimentais mostram que há liberação tecidual de substâncias quimioatraentes e que os polimorfonucleares neutrófilos (PMN) são as células mais encontradas nesta fase exsudativa. Estes parecem ser ineficazes na proteção frente ao bacilo, e subsequentemente ocorre o afluxo de monócitos (Edwards & Kirkpatrick, 1986). Os bacilos fagocitados são então drenados para linfonodos regionais. A ativação de células epitelióides e de Langhans acontece tanto no local da infecção primária como no linfonodo satélite. A necrose caseosa dentro dos granulomas evidencia imunidade mediada por células e ocorre simultaneamente ao aparecimento da hipersensibilidade cutânea. O aspecto histológico é de necrose caseosa

central, com células epitelióides e células gigantes de Langhans ao redor, com presença de um manto de linfócitos perifericamente, onde as células T auxiliares (Th) parecem ser menos prevalentes que as T supressoras (Ts) (Lucas, 1988).

Após a infecção primária, a disseminação hematogênica parece sempre ocorrer, possibilitando o acesso dos bacilos à outros órgãos como ossos, fígados, sistema nervoso central e ápices pulmonares. Em muitos casos, ambas as lesões primária e metastáticas resolvem-se sem sequelas, e os bacilos permanecem quiescentes por décadas. Um evento importante para a reativação é a liquefação caseosa da lesão primária, por permitir rápida multiplicação bacilar e disseminação broncogênica. A ação do fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina-1 (IL₁) sobre o endotélio capilar e sobre a deposição local de fibrina tem sido apontada como a principal causa da liquefação (Rook, 1988).

A ocorrência de tuberculose miliar aguda após infecção primária ou pós primária depende em parte do número de bacilos presentes na lesão e principalmente de lesão vascular que possibilite o acesso sanguíneo (Lucas, 1988).

Os fatores genéticos são essenciais para a determinação da susceptibilidade à tuberculose e do desenvolvimento de diferentes formas clínicas da doença (Shurr e col, 1991). Vários autores (Khomenko e col, 1990; Brahmajothi e col, 1991) encontraram uma maior associação entre susceptibilidade às formas graves com o antígeno DR₂. Khomenko e col constataram também que estes pacientes apresentaram maiores níveis de IgG para o PPD, e maior anergia cutânea. O exato

mecanismo pelo qual os genes HLA-DR tem influência sobre o desenvolvimento e o curso da tuberculose, bem como das respostas humoral e celular, permanece ignorado (Khomenko e col., 1990).

De modo geral, a apresentação antigênica depende do processamento do antígeno, das moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), das moléculas de adesão celular e de interleucinas (Harding, Leyva Cobian & Unanue, 1988; Steinman & Young, 1991; Harding, 1991).

A estrutura molecular do antígeno pode interferir em certas etapas do seu processamento. Na tuberculose, foi observado que os sulfatídeos constituintes da micobactéria tem ação lisossomotrópica, impedindo a fusão do lisossomo com o fagossomo (Youmans, 1979). Este evento é de fundamental importância para a fragmentação proteica, e subsequente ligação a moléculas MHC classe II (Harding, 1991).

Dintzis & Dintzis, 1990, à partir de suas observações experimentais, ressaltaram o papel imunorregulador do próprio antígeno. Segundo estes autores, os pequenos polímeros (peso molecular menor que 100 KDa) não desencadeiam resposta imune, e até causam inibição, através da competição com moléculas imunogênicas (de peso molecular superior a 100 KDa e com mais de 20 epítomos por molécula). Por este mecanismo, qualquer microorganismo que seja capaz de produzir e secretar peptídeos de composição química semelhante às suas proteínas imunogênicas de superfície pode inibir a resposta imune contra si, e escapar às defesas do hospedeiro. No caso do *M.tuberculosis*, todos os peptídeos reconhecidos por células T e anticorpos (Ac) monoclonais apresentam PM menor que 100 KDa.

Os antígenos são apresentados às células T em associação com moléculas MHC classe I ou II (Berzofsky e col, 1988; Werdelin e col, 1988). Os peptídeos que interagem com as moléculas classe I são originados predominantemente no citoplasma da célula apresentadora do antígeno (APC), e ligam-se à moléculas MHC classe I oriundas do retículo endoplasmático (RE). A seguir, estes peptídeos passam pelo Complexo de Golgi, e depois para a superfície celular, quando são apresentados às células T (Braciale e col, 1987 e Harding, 1991). Por ser um microorganismo capaz de parasitismo intracelular (IC), há possibilidade do *M.tuberculosis* evadir-se do fagossomo para o citoplasma celular, ou de secretar proteínas de *stress* (Heat-shock-protein ou HSP), as quais podem ser reconhecidas dentro do contexto MHC classe I. A evasão do fagolisossomo já foi demonstrada para *Listeria* (Tilney & Portnoy, 1989), mas até o momento não há modelos experimentais adequados para tal comparação com o bacilo da tuberculose. Em contraste, os antígenos de origem exógena ligam-se usualmente às moléculas MHC classe II, após seu processamento antigénico pelas células apresentadoras de antígeno.

Há evidências de que as moléculas MHC classe I sejam reconhecidas pelas células TCD8⁺ e que as moléculas MHC classe II pelas células TCD4⁺ (revisto de Braciale e col, 1992). Além dos linfócitos *alfa-beta* CD8⁺ e CD4⁺, temos também as células *gama - delta*, que são duplo negativas. Born e col, 1990, identificaram uma proteína de 65 Kd do *M.tuberculosis* que é membro das HSP e que é reconhecida por esta subpopulação celular.

As células T CD8⁺ tem ação citolítica protetora para várias infecções por fungos, bactérias e protozoários (Kaufmann, 1988). A ativação de células TCD8⁺ pelo *M.tuberculosis* restrito à endossomos foi relatada pelo mesmo autor em 1991.

As células TCD4⁺ produzem várias interleucinas, conseguindo por meio destas a atração de fagócitos mononucleares ao local infectado, indução de granuloma e ativação do macrófago (Hahn e Kaufmann, 1981). Orme, em 1991, sugeriu que a imunidade à infecção pelo *M.tuberculosis* e o estabelecimento de uma memória duradoura estejam relacionados à ativação de células TCD4⁺. Seguindo este raciocínio, o autor sugere ainda que o desenvolvimento de uma vacina eficaz para a tuberculose depende do isolamento de um peptídeo que estimule especialmente esta via.

Há evidências na literatura de que as subpopulações celulares TH₁ e TH₂ descritas por Mossman e Coffman em 1989, também ocorram em humanos, com importante papel na resposta imune *in vivo* (Mossman e Coffman, 1989; Kaufmann, 1991). Não há descrições do envolvimento destas duas subpopulações de células T especificamente frente à infecção pelo *M.tuberculosis*. Há estudos que mostram a ação protetora das células TH₁ para a *Leishmania*, onde a produção de interferon *gama* (IFN - *gama*) é essencial para a ativação do macrófago e morte da bactéria intracelular. A atividade protetora do IFN-*gama* também foi observada na listeriose em ratos, mas não se obteve aumento da atividade listericida após o estímulo de macrófagos humanos. Na tuberculose, a estimulação de monócitos humanos com IFN - *gama* proporcionou aumento do crescimento da micobactéria, conforme

observação de Flesch (revisto por Kaufmann, 1991). Os fatores indutores da diferenciação das células TH precursoras (THp) em TH₁, TH₂ ou outros fenótipos não estão bem estabelecidos. As interleucinas presentes no momento da diferenciação linfocitária parecem ocupar papel de fundamental importância, ao lado das células apresentadoras de antígeno (APC).

As células *gama - delta* tem sido identificadas nas lesões necróticas de pacientes com linfadenite tuberculosa. São capazes de produzir IL2 (O'Brien e col., 1991) e lise celular, e podem contribuir com a defesa do hospedeiro, por destruírem macrófagos contendo micobactérias, ou com a patologia, através de lesão tissular (Lowrie & Andrew, 1988; Lowrie, 1990). O reconhecimento antigênico da HSP-65 por esta subpopulação celular já foi demonstrada (Born e col, 1991). Talvez as células *gama - delta* que respondam a esta proteína de stress tenham um papel importante na detecção de células parasitadas que escaparam da ação dos linfócitos *alfa - beta* (Bloom & Oldstron, 1991).

Em relação às células apresentadoras de antígeno, os fagócitos mononucleares (monócitos / macrófagos) são essenciais para a resposta imune frente ao bacilo da tuberculose, por atuarem tanto na via aferente, com função de apresentação antigênica, como na eferente, pela capacidade de destruição de bacilos IC.

Maijernick, Ul-Hag e Rinehart, 1983 e Toews e col, 1984, demonstraram que macrófagos alveolares de indivíduos saudáveis não exercem a função de apresentação antigênica. Contudo, esta célula

assume tal função em indivíduos com tuberculose (Ina e col, 1991). A apresentação antigênica pelos macrófagos alveolares não é dependente de diferenças de concentração de moléculas HLA - DR, nem dependentes de IL₁. É provável que um aumento de densidade do fator ativador de linfócitos (LFA₁) esteja relacionado com a capacidade de apresentação antigênica. Além do LFA₁, outras adesinas devem ter participação importante na resposta imune frente ao BK, mas há poucos estudos a respeito (Krensky e col, 1983; Howard, Eanes & Takey, 1986; Nageret & Piereis, 1991).

Os mecanismos da ação sinérgica de interleucinas sobre os fagócitos mononucleares ainda não estão totalmente esclarecidos: a associação de IFN *gama* e o fator estimulador de colônias de macrófagos e granulócitos (GM-CSF) determina aumento do tempo de duplicação da micobactéria IC (Denis, 1991). A adição do fator de necrose tumoral *alfa* (TNF *alfa*) à essas células confere grande capacidade de destruição IC do *M.avium*. Denis (1991) estudou o efeito de citocinas e calcitriol sobre monócitos humanos infectados pelo *M.tuberculosis*, e constatou grande atividade bacteriostática da vitamina D₃, que atingiu níveis máximos quando em associação com TNF *alfa* e IFN *gama*. A adição de catalase, dismutase do superóxido e anti-TNF *alfa* não modificou a bacteriostase obtida. Nacy e Meltzer, 1991, ponderam que a morte de bactérias intracelulares depende dos efeitos autócrinos do TNF *alfa*, cuja produção é estimulada pelo calcitriol, IFN *gama* e pela própria micobactéria, e suprimido pela ação do fator transformador do crescimento (TGF - *beta*). O exato mecanismo de ação do TNF *alfa* não é conhecido, mas sabe-se que é essencial para a indução de atividade

antimicrobiana específica para *Mycobacteria* (Zerlauth, Eibl & Mannhalter, 1991). O TNF - *alfa*, IL1 e IFN - *gama* possibilitam também uma maior expressão de moléculas de adesão intracelular (ICAM-1) em cultura de células (Carlos & Harlan, 1990).

Os fagócitos mononucleares apresentam também importante função imunoreguladora. A ação supressora de células aderentes do sangue periférico de indivíduos com tuberculose foi descrita por Ellner em 1978. Fujiwara e col (1986) observaram que o sobrenadante de culturas de monócitos de pacientes com tuberculose estimulados com LPS ou PPD apresentou maior nível de IL1 que o de culturas de células de indivíduos saudáveis tuberculino-reatores. Essa maior secreção de IL1 mostrou correlação positiva com a ação supressora dos monócitos frente a blastogênese induzida pelo PPD. Os autores demonstraram então que na tuberculose pulmonar os monócitos estão capacitados para uma maior secreção de IL1, e que este evento talvez seja responsável pelo efeito supressor. Apt, Kramnick e Moroz (1991), demonstraram que células intersticiais pulmonares de camundongos com características de macrófagos tem ação supressora sobre a proliferação linfocitária *in vitro*, após infecção pelo *M. tuberculosis*. O mecanismo desta supressão parece envolver uma via inespecífica, envolvendo PGE₂, e outra específica ao PPD, mediada por linfócitos CD₈⁻, Fc *gama* R⁺, provavelmente em interação com monócitos, e que acontece mais acentuadamente na presença de células I-J positivas (Ferrick & Herscowitz, 1988).

Foi observado, nos últimos anos, um número crescente de pacientes encaminhados ao Ambulatório de Tisiologia do HC - UNICAMP por

tuberculose resistente à tratamento. Situação semelhante foi observada por vários pesquisadores (Kritski e col, 1986; Bhatti e col, 1990; Dooley e col, 1992; Pearson e col, 1992). Estes pacientes são sempre submetidos à um protocolo de exames laboratoriais que objetivam elucidar o porquê da falência de tratamento. No entanto, a existência de um grupo de pacientes nos quais não se detecta a causa tem chamado a atenção, e gerado uma situação delicada para médicos e pacientes. A doença evolui sem que haja resposta às mudanças de medicamentos, e os pacientes, anos a fio, procuram a cura com grande expectativa ou, às vezes, com intensa depressão. Além destas questões individuais, os pacientes disseminam BK por onde vivem.

Para tentar identificar outras causas de falência de tratamento, objetiva-se neste trabalho comparar um grupo de pacientes crônicos com aqueles que evoluíram para a cura em 6 meses. Foram avaliados hemogramas; tipagem e cultura de micobactérias; migração e fagocitose de monócitos; dosagens séricas de IgA, IgE, IgG e IgM; dosagens séricas de C3, C4 e CH50 ; reatividade cutânea aos antígenos PPD, tricofitina, candidina, Sk/Sd, DNCB2000 e DNCB50 microgramas; e a extensão das alterações radiológicas.

II — METODOLOGIA

II. Metodologia:

1. Seleção de Pacientes (Grupo I).

Foram selecionados pacientes com diagnóstico de tuberculose pulmonar (confirmada por baciloscopia de escarro e/ou cultura para BK), em acompanhamento junto ao Ambulatório de Tisiologia - HC-UNICAMP, que apresentassem evolução não habitual ao tratamento, ou seja, falência de tratamento.

Foram estudados 10 pacientes, sendo cinco do sexo masculino, com faixa etária variando entre 31 e 78 anos. Na ocasião, 2 apresentavam pesquisa de BK no escarro negativa e três estavam com baciloscopia francamente positiva. As cinco pacientes de sexo feminino tiveram idades variando entre 29 e 59 anos, havendo positividade do bacilo no escarro em 100% dos casos, no momento da pesquisa.

Todos os pacientes e/ou familiares receberam explicações sobre a natureza e objetivos da pesquisa.

1.1. Exames Complementares :

- A verificação da presença de rifampicina e isoniazida na urina e/ou sangue foi realizada pelo Centro de Controle de Intoxicações do HC-UNICAMP, por cromatografia de camada delgada.

- A realização de sorologias para detecção de anticorpos para o vírus da imunodeficiência humana (HIV) ocorreu no Laboratório de Pesquisas em AIDS, HC-UNICAMP, utilizando-se o método ELISA.

- A realização de hemogramas, baciloscopias e culturas de escarro, antibiogramas para BK, dosagens de imunoglobulinas, determinação de C₃, C₄ e CH₅₀, bem como outros exames para avaliação geral (eletrolitos, creatinina, protoparasitológico, etc.) foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica, HC-UNICAMP.

- As radiografias de tórax foram realizadas no Departamento de Radiologia HC-UNICAMP ou em serviços do SUDS.

1.2. Esquema de Drogas Antituberculosas em Pacientes (Grupo I):

Os pacientes recebiam diferentes esquemas terapêuticos por apresentarem distinções quanto ao uso prévio de fármacos, tempo de tratamento e sensibilidade ao antibiograma (Quadro V).

QUADRO V : Drogas Antituberculosas Usadas por Pacientes do Grupo I.

PACIENTE	PZA	INH	EMB	RMP	ST	ETH
01- DF	-	X	-	X	-	-
02- JBHS	-	X	-	X	-	-
03- GF	X	X	X	X	-	-
04- ASM	X	-	X	-	-	X
05- LC	-	-	-	-	-	-
06- HPS	X	-	X	X	-	X
07- MGM	-	X	X	X	X	X
08- TMP	X	X	-	-	X	-
09- ALA	-	X	-	X	-	X
10- MBS	X	-	X	-	X	X

PZA - Pirazinamida, INH - Isoniazida, EMB - Etambutol, RMP - Rifampicina, ST - Estreptomicina, ETH - Etionamida.

2. Seleção de Grupo Controle (Grupo II).

O grupo controle foi constituído de 10 indivíduos com tuberculose pulmonar devidamente confirmada por baciloscopia ou cultura para BK.

Foram escolhidos pacientes não portadores de patologias concomitantes, com grande expectativa de boa evolução com esquema triplice. A escolha foi feita levando-se em consideração a idade, sexo, e a atividade da doença.

Os pacientes com tuberculose refratária à tratamento foram comparados com indivíduos na mesma situação de atividade da doença. Assim, em ambos os grupo, 9 pacientes apresentavam baciloscopia ou cultura para BK positivas, e um com exames negativos.

Oito pacientes foram seguidos no Ambulatório de Tisiologia HC-UNICAMP, e dois foram seguidos pela autora no Centro de Saúde de Santa Bárbara d'Oeste.

Foi explicado à esses pacientes o objetivo dos exames, e obtido o consentimento para a realização dos mesmos.

Todos esses pacientes apresentaram negatificação de escarros após 12 mês de quimioterapia, preenchendo critérios de cura até o 60 mês de tratamento e sem recidivas até o momento.

2.1. Esquema de Drogas Antituberculosas em Controles (Grupo II):

Com exceção de um paciente que já havia terminado o tratamento, todos os demais se encontravam no primeiro mês do esquema triplice (rifampicina, isoniazida e pirazinamida).

3. Protocolo de Investigação Laboratorial nos dois grupos: Grupo I (Pacientes) e Grupo II (Controles):

Com a finalidade de detecção da causa de falência de tratamento, os pacientes foram submetidos aos seguintes exames:

1. Cromatografia de camada delgada para isoniazida e rifampicina (sangue e/ou urina).
2. Cultura de escarro para micobactérias e antibiograma.
3. Realização de sorologia para o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (ELISA).

4. Hemograma.

5. Fagocitose por monócitos de sangue periférico para partículas de zimosan e hemácias de carneiro opsonizadas (Ea).

6. Quimiotaxia de monócitos de sangue periférico.

7. Dosagem sérica de IgA, IgG, IgM e IgE.

8. Dosagem sérica de C3, C4 e CH50

9. Realização de testes cutâneos para hipersensibilidade tardia, usando-se como antígenos o PPD, tricofitina, candidina, estreptoquinase/dornase(SK/Sd), DNCE2000 e DNCB50 microgramas.

4. Protocolo de Avaliação Radiológica:

Radiografias de tórax realizadas em incidência pósterio-anterior foram classificadas usando-se os critérios propostos por Kardjito & Grange, 1980. As radiografias foram classificadas por quatro pessoas (duas pneumologistas e duas radiologistas) separadamente. Os casos não concordantes foram discutidos.

5. Quimiotaxia.

5.1. Obtenção de Leucócitos Mononucleares:

Imediatamente após coleta asséptica de sangue com heparina (aproximadamente 100 U de heparina por ml de sangue), procedeu-se a sedimentação em temperatura ambiente por 1 hora. O plasma rico em leucócitos, juntamente com a porção superior da coluna de hemácias, foi centrifugado por 10 min à 1.500 r.p.m., e o botão, em seguida, suspenso em 2ml de solução salina balanceada de Hanks. Esta solução foi colocada sobre Ficoll-Hypaque com densidade de 1.076 e centrifugada à 1500 r.p.m. por 30 minutos (para separação de leucócitos mononucleares e polimorfonucleares). Os leucócitos mononucleares foram cuidadosamente removidos do gradiente e lavados três vezes com solução de Hanks, sempre aquecida à 37°C. Em seguida, foram suspensos em solução de Hanks e ajustada a concentração para 1×10^6 cels/ml para o ensaio de fagocitose e 2×10^6 cels/ml para quimiotaxia.

5.2. Obtenção de Fator Quimiotático:

"Pools" de soros de adultos normais e individualmente os soros de pacientes foram incubados isoladamente por 30 minutos, à 37°C, com um lipopolissacarídeo de E.coli (L.P.S.), dissolvido em solução de Hanks aquecida à 37°C, numa concentração de 100 microgramas/ml. Isso

determinou a geração do fator quimiotático para monócitos, usado no ensaio quimiotático, com diluição final de 10%.

5.3. Ensaio Quimiotático:

O método utilizado constitui uma adaptação da técnica de Boyden, 1962. No compartimento inferior da câmara de quimiotaxia (câmara de Boyden modificada), colocou-se 0,2 ml do fator quimiotático, e no compartimento superior 0,5 ml da suspensão celular para monócitos, com concentração de 2×10^6 cels/ml, sendo os dois compartimentos separados entre si por uma membrana de filtro de éster de celulose, com poros de 8 micra. Como controle, para determinação da migração espontânea, colocou-se apenas solução de Hanks na parte inferior da câmara.

As câmaras foram incubadas por 120 minutos à 37°C, em atmosfera úmida, com 5% de CO₂. Após este período, os filtros foram removidos, fixados em etanol absoluto, corados com hematoxilina de Harris, desidratados pela passagem em concentrações gradativamente crescentes de álcool etílico, diafanizados em xilol, e finalmente montados entre lâminas e laminula, com resina Entellan (Merck).

Foram realizadas as seguintes combinações (em duplicata):

- Monócitos de paciente + solução de Hanks.
- Monócitos de paciente + soro humano normal com LPS.
- Monócitos de paciente + soro de paciente com LPS.

5.4. Leitura:

A leitura foi realizada em microscópio Nikkon, utilizando-se a objetiva de aumento para 40 vezes, e o ajuste fino de micrômetro.

Através da variação observada no micrômetro, mediu-se a distância entre a camada de células que ficou mais próxima do compartimento superior da câmara de Boyden, predominantemente linfocitária, até o campo onde a última célula fosse visualizada. O resultado expresso em micra, foi dado pela média de 20 leituras realizadas para cada membrana de filtro.

Os parâmetros de normalidade da quimiotaxia foram aqueles encontrados por Vilela (1985).

6. Fagocitose de Eritrócitos de Carneiro Incubados com Anticorpo (Ac) de Coelho Anti-Eritrócito de Carneiro (Ea).

6.1. Obtenção de Partículas Ea:

Eritrócitos de carneiro em solução de Alsever estéril foram lavados 3 vezes em solução de NaCl à 0,85% e, em seguida, a concentração foi ajustada para 5%, em solução de Hanks. A seguir, a suspensão foi então incubada por 30 minutos, à 37°C, com igual volume

de Ac anti-E, numa diluição de 1:160 determinada como título subaglutinante.

Após este período de incubação, os eritrócitos foram lavados 3 vezes em solução de Hanks e ajustada a concentração para 0,5%.

6.2. Fagocitose de Partículas de Zimosan Incubadas Previamente com Soro Humano:

As partículas de zimosan foram lavadas uma vez em solução salina e 2 vezes em solução de Hanks.

A seguir, foram suspensas em 2 frascos contendo solução de Hanks e 10% de soro humano fresco ("Pool" de adultos normais e soro de cada paciente), numa concentração de 1×10^7 partículas/ml.

6.3. Ensaios Fagocítico para Ea e Zimosan.

Um mililitro da suspensão contendo 1×10^6 leucócitos mononucleares de pacientes ou controles normais foi incubado no interior de tubos de Leighton (contendo uma laminula de vidro previamente desengordurada e seca), por 30 minutos, à 37°C, em atmosfera úmida com 5% de CO₂, para que os monócitos pudessem aderir à laminula.

Após este período de incubação, os tubos foram lavados cinco vezes com agitação vigorosa, em solução de Hanks, à temperatura ambiente, para a remoção das células que não aderiram (linfócitos).

Em seguida, as células aderentes à laminula foram incubadas por mais 30 minutos, nas mesmas condições anteriores, com suspensão de partículas previamente opsonizadas a serem fagocitadas, constituídas de Ea, para a investigação dos receptores para Fc da IgG, ou com zimosan incubado com soro para evidencição de receptores para a fração C₃ do complemento.

Os experimentos foram realizados dentro do seguinte esquema (em duplicata):

- Monócitos de paciente + zimosan incubado com Hanks.
- Monócitos de paciente + zimosan incubado com soro humano normal
- Monócitos de paciente + zimosan incubado com soro de paciente.
- Monócitos de paciente + Ea.

6.4. Coloração e Leitura:

Após 30 minutos de incubação, como referido no item anterior (4-5), as laminulas foram vigorosamente lavadas cinco vezes com solução de Hanks, à temperatura ambiente, para remoção de partículas não fagocitadas. Em seguida, as laminulas foram retiradas do interior dos tubos de Leighton e colocadas em suporte.

Para os experimentos com Ea procedeu-se à fixação com álcool metílico e coloração para hematoxilina-eosina.

Para as laminulas incubadas com zimosan, utilizou-se o corante de Leischman.

Após a coloração e secagem, as laminulas foram montadas usando-se resina Entellan (Merck).

A leitura ao microscópio foi realizada com objetiva de imersão (aumento de 1.000 vezes), contando-se 200 à 400 monócitos em cada laminula, identificando-se as células que haviam fagocitado as partículas. Os resultados foram expressos em porcentagem de células que fagocitaram em relação ao número total de monócitos identificados, definido como índice fagocitário, e pelo número total de partículas fagocitadas por cem monócitos, definido como capacidade fagocitária.

Estas técnicas descritas são realizadas rotineiramente no Laboratório de Imunopediatria HC-UNICAMP, e foram padronizadas anteriormente à partir de várias fontes da literatura (Territo & Cline 1976; Masuda, 1977; Van Furth, Van Zwet & Leijh, 1978, Lazzari 1980).

7. Testes Cutâneos para Avaliação de Imunidade Celular:

Utilizando-se os antígenos citados no item 3 (ppd, tricoftina, candidina e Sk/Sd), procedeu-se à injeção intradérmica de 0,1 ml. As medidas da área de enduração foram realizadas em duas dimensões, 72

horas após a inoculação. A reação foi considerada positiva quando houve enduração com diâmetro maior ou igual a 5 mm (Spitler, 1978).

Foram aplicados discos de feltro com doses de DNCB com 2000 e 50 microgramas, sobre pele previamente desengordurada em região dorsal superior, e mantidos por 24 horas. Após 14 dias, foram observadas reações inflamatórias locais (eritema /enduração). Na data de leitura foi aplicada nova dose de 50 microgramas, em lado contralateral, e observadas reações de eritema e enduração após 72 horas (Catalona e col, 1972).

8. Dosagem de Imunoglobulinas:

A determinação dos níveis séricos de IgA, IgM e IgG foi realizada por imunodifusão radial (Mancini, Carbonara e Heremans, 1965), em placas Nor-Partigen (Behring).

A determinação de níveis de IgE foi feita por ensaio imunoenzimático usando-se material de procedência do Laboratório Abbott.

Tais dosagens aconteceram preferencialmente no mesmo dia em que os ensaios de quimiotaxia, fagocitose e testes cutâneos.

Os valores de referência foram os encontrados por Naspitz e col., 1982.

III- RESULTADOS

9. Dosagem de C₃, C₄ e CH₅₀.

As determinações dos níveis séricos de C₃, C₄ e CH₅₀ foram feitas usando-se técnica de imunodifusão radial para C₃ e C₄ (placas Nor-Partigen, Behring) e técnica de Kabat & Mayer (1961) para quantificação de CH₅₀.

10. Análise Estatística:

Foram utilizados o teste "t" de Student, e quando indicado o teste exato de Fischer (Beiguelman, 1991) e o teste não paramétrico de Wilcoxon (Roscoe, 1975). O nível de significância considerado foi de 5%. Utilizamos o programa Microstat (Ecosoft Inc., 1984) para análise dos dados.

III. Resultados:

1. Caracterização dos Grupos I (pacientes) e II (controles):

Não houve diferença significativa entre os grupos de estudo e de controle quanto à idade, sendo a média do grupo I igual à 45,8 anos (Desvio Padrão- DP = 16,08), e de 38,6 anos (DP = 18,33) no grupo II ($t = 0,93$, $P = 0,363$).

Também não houve diferença significativa quanto à distribuição dos pacientes em relação ao sexo entre os dois grupos (probabilidade exata de Fischer igual a 0,81).

A proporção de pacientes que apresentava doença em atividade nos dois grupos foi semelhante (probabilidade exata de Fischer=0,89). A comprovação da atividade da doença foi obtida pela baciloscopia direta de escarro e/ou cultura para BK positivas.

Quanto ao fator raça, observou-se que nove pacientes do grupo I eram brancos (B). e um era pardo (P - mestiço). No grupo II, 6 indivíduos eram de raça branca, 1 de raça negra (N), 1 de raça amarela (A), e 2 eram pardos. Não houve diferença estatisticamente significativa quanto à frequência de caucasóides (probabilidade exata de Fischer = 0,15).

O quadro VI mostra as características dos dois grupos quanto aos fatores idade, sexo, atividade da doença e raça.

QUADRO VI -Caracterização dos Grupos de Pacientes (I) e Controles (II), quanto à distribuição de idades, sexo e atividade da doença.

GRUPO I					GRUPO II				
Paciente	idade	sexo	A.D.	cor	Paciente	idade	sexo	A.D.	cor
01-DF	41	M	+	B	11-JCA	38	M	+	N
02-JBHS	44	M	-	B	12-LCP	40	M	+	P
03-GF	77	M	+	B	13-PJA	66	M	+	B
04-ASM	31	M	+	B	14-JGC	38	M	+	P
05-LC	61	M	-	B	15-PZ	67	M	-	B
06-HP3	51	F	+	B	16-GRT	53	F	+	E
07-MGM	37	F	+	B	17-EKA	24	F	+	A
08-TMP	29	F	+	B	18-CL	22	F	+	B
09-ALA	28	F	+	B	19-MNT	18	F	+	B
10-MBS	59	F	+	P	20-IM	20	M	+	B

Abreviações: A.D. - atividade de doença, B - branco, P - pardo, N - negro, A - amarelo

2. Tempo de Doença:

Esta variável distingue os dois grupos. A média encontrada foi de 3,4 anos (DP = 2,66) no grupo I, e de 0,13 anos (DP = 0,13) no grupo II (Z = 3,78, P = 0,15 x 10⁻⁸).

No grupo I, levou-se em consideração o tempo de tratamento da tuberculose até a realização do estudo de quimiotaxia e fagocitose ou até a negatificação do escarro (que ocorreu em dois casos do grupo I) está expresso no quadro VII. Os pacientes 1,2 e 7 apresentaram vários episódios de negatificação de escarro com recidiva posterior. Nesses casos foi considerado apenas o tempo desde a última positificação do escarro até a realização dos exames para os pacientes 1 e 7, e até a negatificação de escarro no paciente 2. O paciente 5 apresentou falência de tratamento, com doença em atividade até um ano após o início de

quimioterapia, mas no momento da investigação apresentava-se com baciloscopia negativa.

O quadro VIII mostra o número de recidivas e a data do primeiro tratamento para os pacientes 1, 2 e 7.

A média do tempo de doença no grupo II (presumida desde o início da sintomatologia clínica até início de tratamento) foi de 0,13 anos (DP = 0,13). Um dos pacientes (15) já havia concluído tratamento, e a sua inclusão justifica-se por haver paciente em condições semelhantes no grupo I. Todos os indivíduos apresentaram negatificação de escarro ao final do primeiro mês de tratamento.

QUADRO VII - Tempo aproximado de Atividade de Doença nos Grupos I e II.

PACIENTE GRUPO I	TEMPO DE ATIVIDADE DA DOENÇA	PACIENTE GRUPO II	TEMPO DE ATIVIDADE DA DOENÇA
01-DF	8 anos	11-JCA	1 mês
02-JBHS	2 anos	12-LCP	1 mês
03-GF	2 anos	13-PJA	2 meses
04-ASM	1 ano	14-JGC	1 mês
05-LC	1 ano	15-PZ	-
06-HPS	4 anos	16-GRT	2 meses
07-MGM	1.5 anos	17-EKA	1 mês
08-TMP	6 anos	18-CL	1 mês
09-ALA	7 anos	19-MNT	1 mês
10-MBS	1 ano e 8 meses	20-IM	6 meses

QUADRO VIII - Recidivas entre três pacientes do Grupo I.

Paciente	Primeiro Tratamento	Nº de Recidivas
01-DF	1974	1
02-JBHS	1965	9
07-MGM	1981	3

3. Avaliação do Uso de Medicamentos:

A presença de rifampicina e isoniazida em sangue e/ou urina foi observada em 9 indivíduos do grupo I, e em 8 do grupo II. Os indivíduos em tratamento hospitalar não realizaram o exame (comprovadamente faziam uso da medicação).

4. Culturas para Micobactérias

A cultura para *Mycobacterium* foi positiva em todos os indivíduos do grupo I. A tipagem foi realizada em 8 casos, confirmando-se etiologia por *M.tuberculosis*. Não foi realizada tipagem de *Mycobacterium* de 2 pacientes por dificuldades laboratoriais.

A cultura para micobactérias não é exame de rotina para casos de boa evolução, tendo sido realizada em poucos indivíduos do grupo II.

O quadro IX mostra os resultados obtidos

QUADRO IX - Resultados de Culturas para Micobactérias nos Grupos I (Pacientes) e II (Controles):

GRUPO I			GRUPO II		
PACIENTE	DATA	RESULTADO	PACIENTE	DATA	RESULTADO
01-DF	08/85 02/86 12/89	<i>M. tuberculosis</i>	11-JCA	-	-
02-JBHS	04/02/86 21/03/86 11/01/89	<i>M. tuberculosis</i>	12-LCP	26/10/89	<i>M. species</i>
03-GF	13/12/89	<i>M. tuberculosis</i>	13-PJA	01/06/91	<i>M. tuberculosis</i>
04-ASM	24/09/90	<i>M. tuberculosis</i>	14-JGC	-	-
05-LC	25/07/88	<i>M. species</i>	15-PZ	-	-
06-HPS	27/05/82 21/06/90	<i>M. tuberculosis</i>	16-GRT	13/12/90	<i>M. species</i>
07-MGM	28/08/89	<i>M. tuberculosis</i>	17-EKA	-	-
08-TMP	26/01/90	<i>M. species</i>	18-CL	10/12/90	<i>M. species</i>
09-ALA	19/09/89 03/10/89	<i>M. tuberculosis</i>	19-MNT	-	-
10-MBS	14/12/89	<i>M. tuberculosis</i>	20-IM	-	-

5. Antibiógramas:

Foram realizados antibiógramas em 6 casos do grupo I, e os resultados estão expressos no quadro X.

QUADRO X - Resultados de Antibiogramas no Grupo I (Pacientes).

PACIENTE	DATA	PZA	INH	EMB	RMP	ST	ETH	PAS	KANA	CICLO
01-DF	01/12/85	R	R	R	R	S	NT	NT	NT	NT
	03/86	R	R	R	R	S	R	S	S	NT
	09/86	S	S	S	S	S	R	NT	S	NT
02-JBHS	10/03/85	S	R	S	S	S	S	NT	S	NT
	06/86	NT	R	R	R	R	R	R	R	NT
03-GF	12/89	R	R	R	R	S	R	R	R	NT
04-ASM	19/06/91	S	S	S	S	S	S	S	S	S
06-HPS	25/06/90	R	NT	R	R	R	R	R	R	NT
10-MBS	26/10/90	S	S	R	S	S	S	S	S	S

PZA - Pirazinamida, INH - Isoniazida, EMB - Etambutol, RMP - Rifampicina, ST - Estreptomicina, ETH - Etionamida, PAS - Ácido Para-amino salicílico, KANA - Kanamicina, CICLO - Ciclosserina, NT - Não testado.

Foi observada resistência múltipla às drogas antituberculosas em um paciente; a variação de sensibilidade à droga com o decorrer do tempo foi observada em dois pacientes; houve sensibilidade à um ou mais fármacos em cinco casos.

6. Sorologia para o Vírus da Imunodeficiência Humana (H.I.V.):

Nenhum paciente ou controle pertencia à grupos de risco para a Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida (SIDA). O exame foi realizado nos 10 pacientes do grupo I e em 8 pacientes do grupo II. Todos os resultados foram negativos. Dois indivíduos do grupo controle não foram submetidos à este exame por não haver justificativa para realização do mesmo à nível da rede de saúde pública.

7. Hemograma:

Hemoglobina:

Quatro pacientes do grupo I apresentaram níveis de hemoglobina abaixo da normalidade. Os menores valores correspondem aos casos que apresentavam hemoptises recentes ou em curso (paciente 4 e 10). A média dos níveis de hemoglobina encontrada no grupo I foi de 12,71 g/dl (DP = 1,69). A média do grupo II foi de 14,02 g/dl (DP = 1,56). O único caso de anemia encontrado neste grupo também esteve associado à ocorrência de hemoptise na ocasião do exame.

Não houve diferença significativa entre os dois grupos ($t = 1,79$, $P = 0,08$).

Hematócrito:

O valor do hematócrito mostrou-se abaixo da normalidade em 2 pacientes (4 e 10). O valor médio do grupo I foi igual à 39,07 (DP = 5,11) e de 42,43 no grupo II (DP = 3,82). As médias estão dentro da normalidade, e os dois grupos não apresentam diferença significativa ($t = -1,66$ e $P = 0,11$).

Número de Leucócitos:

Foi verificada leucocitose em 6 pacientes do grupo I e em 2 casos do grupo II. Nenhum paciente apresentava quadro infeccioso inespecífico concomitante.

Houve diferença significativa entre os dois grupos quanto ao número de leucócitos ($t = 3,18$, $P = 0,005$), com predominância de leucocitose nos pacientes com refratariedade ao tratamento.

Metamielócitos:

Não houve achado habitual de metamielócitos no hemograma, exceto em um caso do grupo I.

Bastonetes:

O número absoluto de bastonetes esteve elevado em 2 casos do grupo I, e em um caso do grupo II. Não foram observados bastonetes em 2 casos do grupo I. Não houve diferença estatística entre os grupos, considerando-se valores normais e anormais (probabilidade exata de Fisher = 0,15). Considerando-se os valores relativos, houve elevação percentual em 1 caso do grupo I e 3 casos do grupo II. Não foi portanto observada ocorrência de desvio à esquerda. Não houve diferença significativa entre os grupos (média do grupo I = 2,6%; média do grupo II = 4,1% : probabilidade exata de Fischer = 0,50).

Segmentados:

Oito pacientes do grupo I apresentaram um aumento do número absoluto de segmentados, enquanto apenas 2 do grupo controle apresentaram esta alteração. Houve portanto diferença significativa entre os grupos quanto ao número absoluto de segmentados (probabilidade exata de Fischer = 0,01). Quanto aos valores relativos, a média encontrada no grupo I foi de 71,6% (DP = 6,29) e de 61,5% (DP = 13,06) no grupo II. Houve um achado mais frequente de percentuais elevados de segmentados no grupo I (9 indivíduos) em relação ao grupo II (4 casos). Houve diferença significativa entre paciente e controles (probabilidade exata de Fischer = 0,02).

Eosinófilos:

Observaram-se valores elevados em 1 paciente do grupo I e em 3 indivíduos do grupo controle. Nos demais, o número de eosinófilos encontra-se na faixa de normalidade (média percentual do grupo I = 3,9%, DP = 4,04. e média do grupo II = 4,9% , DP = 6,74 ;probabilidade exata de Fischer = 0,29).

Basófilos:

Houve presença de 1% de basófilos em apenas 2 casos do grupo controle, estando todos os resultados dentro da faixa de normalidade.

Linfócitos:

A contagem absoluta esteve dentro da normalidade em 19 pacientes, e diminuída em 1 paciente do grupo II (probabilidade exata de Fischer = 0,5).

A porcentagem média de linfócitos ao hemograma foi de 17,7% para o grupo I (DP = 4,37), estando portanto abaixo da normalidade, e de 22,9% no grupo II (DP = 7,76). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, considerando-se resultados dentro e fora da normalidade (probabilidade exata de Fischer = 0,18).

Monócitos:

A porcentagem média do número de monócitos no grupo I foi de 4,2% (DP = 4,37) e de 6% no grupo II (DP = 4,1), situando-se portanto dentro da faixa de normalidade. A monocitose relativa foi observada em 3 pacientes do grupo II. Houve ocorrência de monocitose relativa em 2 pacientes do grupo I e em 3 indivíduos do grupo controle (probabilidade exata de Fischer = 0,08). Em relação à contagem absoluta encontramos valores acima da normalidade, em 2 pacientes do grupo I e em um do grupo II. Monocitopenia absoluta foi observada em um caso do grupo de pacientes e em um controle. Houve, portanto, padrões homogêneos entre os dois grupos (probabilidade exata de Fischer = 0,50).

Os valores encontrados nos hemogramas de indivíduos dos grupos I e II estão expressos nas tabelas 01, 02 e 03. Os parâmetros da normalidade são aqueles preconizados por Todd, Sanford & Davidsohn, 1984.

TABELA 01 - Hemogramas (Série Vermelha) nos grupos I (Pacientes) e II (Controles).

GRUPO I			GRUPO II		
	Hb (g/dl)	Ht (%)		Hb (g/dl)	Ht (%)
VALORES	H:13-16g/dl	H:37-52%	VALORES	H:13-16g/dl	H:37-52%
NORMAIS	M:12-16g/dl	M:35-47%	NORMAIS	M:12-16g/dl	M:35-47%
PACIENTE			PACIENTE		
01-DF	12,3	38	11-JCA	15,1	43,2
02-JBHS	15,5	48,7	12-LCP	13,5	42,3
03-GF	13,4	41,8	13-PJA	15,9	47,8
04-ASM	10,3	31,8	14-JGC	15,7	48,6
05-LC	14,4	42,4	15-PZ	13,2	40
06-HPS	11,7	37	16-GRT	13,4	42,7
07-MGM	14	42	17-EKA	15,3	41,7
08-TMP	13,1	40,3	18-CL	13,9	42,2
09-ALA	12	36,2	19-MNT	10,7	35
010-MBS	10,4	32	20-IM	13,1	40,8

Hb - Hemoglobina, Ht - Hematócrito, H - Homem, M - Mulher.

TABELA 02 - Hemogramas (Série Branca) nos grupos I e II.

	Leuc	M	Bast	Seg	Eos	Bas	Lin	Mono
VALORES	4.000-							
NORMAIS	10.000/mm ³	0-1%	3-6%	45-66%	1-4%	0-1%	20-40%	4-8%
PACIENTE								
GRUPO I								
01-DF	13.300	0	5	76	2	0	13	4
02-JBHS	8.200	0	1	77	3	0	16	3
03-GF	13100	0	2	75	4	0	12	7
04-ASM	14.600	1	1	71	1	0	20	6
05-LC	8.300	0	0	55	15	0	26	4
06-HPS	13.400	0	0	74	2	0	20	4
07-MGM	9.700	0	1	73	2	0	19	4
08-TMP	9.400	0	1	74	4	0	17	3
09-ALA	17.300	0	8	72	2	0	13	5
10-MBS	12.000	0	5	69	4	0	21	1
GRUPO II								
11-JCA	6.400	0	0	60	4	0	32	4
12-LCP	8.300	0	7	46	3	0	29	15
13-PJA	6.100	0	0	69	6	0	20	5
14-JGC	9.100	0	0	48	22	1	22	7
15-PZ	7.100	0	5	64	4	0	18	9
16-GRT	7.400	0	6	40	10	1	34	9
17-EKA	11.600	0	2	73	1	0	20	4
18-CL	8.400	0	5	62	1	0	29	3
19-MNT	5.800	0	9	75	1	0	14	1
20-IM	12.100	0	7	78	1	0	11	3

Leuc - leucócitos, M - metamielócito, Bast - bastonetes, Seg - segmentados, Eos - eosinófilos, Bas - basófilos, Lin - linfócitos, Mono - monócitos.

TABELA 03 - Diferencial de Leucócitos em Números Absolutos nos Grupos I e II.

	M	Bast	Seg	Eos	Bas	Lin	Mono
VALORES	40-	120-	1.800-	40-	0-	800-	160-
NORMAIS	100/ml	600/ml	6.800/ml	400/ml	100/ml	4.000/ml	800/ml
PACIENTE							
GRUPO I							
01-DF	0	665	10108	266	0	1729	532
02-JBHS	0	82	6314	246	0	1312	246
03-GF	0	262	9825	524	0	1572	917
04-ASM146		146	10366	146	0	2920	876
05-LC	0	0	4565	1245	0	2158	332
06-HPS	0	0	9916	268	0	2680	536
07-MGM	0	194	7081	194	0	1843	388
08-TMP	0	188	6956	376	0	1598	282
09-ALA	0	1384	12456	346	0	2249	865
10-MBS	0	600	8280	480	0	2520	120
GRUPO II							
11-JCA	0	0	3840	256	0	2048	256
12-LCP	0	581	3810	249	0	2407	1245
13-PJA	0	0	4209	366	0	1220	305
14-JGC	0	0	4368	2002	91	2002	637
15-PZ	0	355	4544	284	0	1278	639
16-GRT	0	444	2960	740	74	2516	666
17-EKA	0	232	8468	116	0	2320	464
18-CL	0	420	5208	84	0	2436	252
19-MNT	0	522	4350	58	0	812	58
20-IM	0	847	9438	121	0	1331	363

Leuc - leucócitos, M - metamielócito, Bast - bastonetes, Seg - segmentados, Eos - eosinófilos, Bas - basófilos, Lin - linfócitos, Mono - monócitos.

8. Dosagem de Componentes do Sistema Complemento:

C₃:

Este exame foi realizado em 8 pacientes do grupo I e em 10 pacientes do grupo II. O valor médio para o grupo I foi de 1,16 g/l (DP = 0,23) e de 1,12 g/l para o grupo II (DP = 0,29). Não houve diferença significativa entre os dois grupos, estando a média de ambos dentro da normalidade ($t = 0,05$, $P = 0,96$).

C₄:

Os resultados não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($t = 0,84$, $P = 0,40$). A média do grupo I foi igual à 0,48 g/l (DP = 0,20) e de 0,40 g/l para grupo II (DP = 0,22), ambas dentro da faixa de normalidade. Foram encontrados 3 valores abaixo do limite inferior, sendo um no grupo I e 2 no grupo II. Estas dosagens não foram realizadas em 2 pacientes do grupo I.

CH₅₀:

As médias dos valores de ambos os grupos situam-se acima da normalidade com o valor de 175,11 CH₅₀/ml para o grupo I (DP = 39,75) e de 174,14 CH₅₀/ml (DP = 35,49) para o grupo II. Esta dosagem foi realizada em 9 pacientes do grupo I e em 7 do grupo II. Não houve diferença significativa entre os 2 grupos ($t = 0,05$ e $P = 0,96$).

Os resultados das dosagens de C₃, C₄, CH₅₀ estão expressos na tabela 04.

TABELA 04 - Dosagens de Componentes do Complemento no Grupo I (Pacientes).

	C3	C4	CH50
Valores Normais	(0.55-1.2 g/l)	(0.2-0.5 g/l)	(66-174 CH50/ml)
Paciente			
GRUPO I			
01-DF	1,5	0,71	199
02-JBHS	0,8	0,31	113
03-GF	1,05	0,16	166
04-ASM	0,95	0,62	162
05-LC	NR	NR	165
06-HPS	NR	NR	NR
07-MGM	1,3	0,36	158
08-TMP	1,2	0,58	173
09-ALA	1,4	0,43	262
10-MBS	1,15	0,73	178
Média I	1,16	0,48	175,11
GRUPO II			
11-JCA	1,3	0,78	154
12-LCP	0,77	0,06	NR
13-PJA	0,7	0,41	NR
14-JGC	1,05	0,58	147
15-PZ	1,15	0,49	NR
16-GRT	1,73	0,53	223
17-EKA	1,0	0,23	181
18-CL	1,15	0,16	120
19-MNT	1,1	0,55	199
20-IM	1,3	0,21	195
Média II	1,12	0,40	174,14

NR - Não realizado

9. Dosagem de Imunoglobulinas:

IgA:

A faixa de leitura das placas de imunodifusão radial utilizadas situa-se entre 42 a 634 mg/dl. No entanto, muitos dos valores obtidos estão acima desse limite, comprometendo a exatidão da medida. A probabilidade exata de Fischer considerando-se valores normais e acima da normalidade foi de 0,055. É relevante o fato de que os níveis são bem mais elevados no grupo I. Assim, ao reagruparmos os resultados em categorias dentro e acima da faixa de leitura, vemos que 7 pacientes do grupo I tem valores maiores que 634 mg/dl, e que nenhum indivíduo do grupo II apresenta esse nível. A probabilidade exata de Fischer considerando-se categorias acima e abaixo de 634 mg/dl foi de $2,38 \times 10^{-3}$, mostrando que a hipersecreção de IgA tem diferentes padrões nos 2 grupos.

IgM:

O nível médio de IgM encontrado no grupo de pacientes foi de 291,5 mg/dl (DP = 20,37) e de 301,6 mg/dl (DP = 80,58) no grupo controle. Os níveis encontrados situam-se acima da normalidade em ambos os grupos. Esse exame não foi realizado em 1 paciente do grupo II. Não houve diferença significativa entre os grupos ($t = -0,21$, $P = 0,83$).

IgG:

Encontramos valores médios de IgG acima da normalidade no grupo I, sendo de 2.332,2 mg/dl (DP = 778,92) e de 1.738,88 mg/dl para o grupo II (DP = 415,16). ($t = 2,03$, $P = 0,0576$). Não houve diferença significativa entre os dois grupos, ambos com valores elevados.

IgE:

Os dois grupos apresentaram valores bem acima da normalidade. O nível médio de IgE encontrado no grupo I foi de 949,77 Ui/ml (DP = 740,06) e de 871,46 ui/ml para grupo II (DP = 678,93). Não houve diferença significativa entre os dois grupos ($t = 0,20$, $P = 0,84$).

Os resultados das dosagens de imunoglobulinas estão contidos na tabela 05.

TABELA 05 - Dosagens de Imunoglobulinas Séricas IgA, IgM, IgG e IgE, nos Grupos I e II.

	IgA (mg/dl)	IgM (mg/dl)	IgG (mg/dl)	IgE (Uι/dl)
Valores Normais	(80-476)	(57-212)	(830-2040)	(10-180)
Paciente				
GRUPO I				
01-DF	*700	510	2400	391,0
02-JBHS	500	265	1422	NR
03-GF	*780	240	1750	59,8
04-ASM	*634	280	1600	1112
05-LC	320	40	1500	1585,4
06-HPS	40	265	3350	NR
07-MGM	*700	325	3250	747
08-TMP	*700	295	1950	83
09-ALA	*700	285	3100	1694
10-MBS	*634	410	3000	1926
Média I		291,5	2332,2	949,77
GRUPO II				
11-JCA	535	265	2050	399
12-LCP	570	310	2200	561,40
13-PJA	390	240	2350	1877,8
14-JGC	240	210	1450	NR
15-PZ	240	360	1450	746,60
16-GRT	NR	NR	NR	NR
17-EKA	350	465	1600	NR
18-CL	210	250	1100	132
19-MNT	470	360	1950	NR
20-IM	510	255	1500	1512
Média II	390,55	301,6	1738,88	871,46

NR = Não realizado
* - Os valores assinalados situam-se acima da faixa de leitura das placas de imunodifusão radial utilizadas. A precisão da leitura está, portanto, comprometida, podendo na realidade ser mais elevada.

10. Quimiotaxia de Monócitos:

Monócitos / Meio:

Os valores médios encontrados para a migração de monócitos incubados com meio (solução salina balanceada de Hanks), situaram-se dentro da normalidade. A média do grupo I foi igual à 32,63 micra (DP = 11,33) e de 24,76 micra para o grupo II (DP = 10,92). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($t = 1,58$, $P = 0,13$).

Monócitos / Soro Normal :

Foram encontrados diferentes padrões de migração para os monócitos incubados com soro humano normal (SN), com o encontro de valores mais altos no grupo com refratariedade ao tratamento. A média do grupo I foi de 110,02 micra (DP = 14,44) e de 91,95 micra (DP = 18,48) para o grupo II. Houve confirmação estatística desta diferença ($t = 2,44$, $P = 0,02$).

Monócitos / Soro de Paciente:

Foram encontrados valores normais em 18 casos. Dois casos do grupo controle apresentaram valores abaixo da normalidade. A migração média de monócitos incubados com soro de paciente foi de 97,93 micra para o grupo I (DP = 13,71), e de 93,98 micra para o grupo II (DP = 17,25). Não houve diferença significativa entre os dois grupos ($t = 0,65$, $P = 0,52$).

Os valores encontrados para a migração de monócitos de pacientes dos grupos I e II são mostrados nas tabelas 06.

TABELA 06 - Quimiotaxia de Monócitos nos Grupos I e II.

Paciente	MO-MEIO	MO-SHN	MO-SP
	(11-51 micra)	(75-135 micra)	
GRUPO I			
01-DF	23,8	114,8	78,62
02-JBHS	41,87	111,72	108,2
03-GF	31,07	97,32	102,25
04-ASM	22,62	79,67	75,02
05-LC	28,75	110,95	106,47
06-HPS	24,3	120,1	112,7
07-MGM	36,45	123,85	86,4
08-TMP	36,13	106,71	113,65
09-ALA	58,55	130,9	97,5
10-MBS	22,17	104,47	98,5
Média I	32,63	110,02	97,93
GRUPO II			
11-JCA	13,45	90,12	105,4
12-LCP	28	118,1	113,72
13-PJA	11,2	69,22	71,02
14-JGC	38,4	103,15	97,2
15-PZ	43,07	69,75	77,25
16-GRT	10,95	115,47	111,55
17-EKA	22,5	81,3	94,65
18-CL	23,7	98,22	108,12
19-MNT	25,87	102,62	89,45
20-IM	30,48	71,62	65,44
Média II	24,76	91,95	93,98

MO-MEIO - monócito incubado com meio, MO-SHN - monócito incubado com soro humano normal, MO-SP - monócito incubado com soro do paciente.

11. Fagocitose:

índice Fagocitário:

Zimosan / Meio:

O índice médio de fagocitose de partículas de zimosan incubadas com meio foi 15,27 no grupo I (DP = 12,45), e 13,23 no grupo II (DP = 12,57). Os valores estão na faixa de normalidade. Não houve diferença significativa para os dois grupos ($t = 0,36$, $P = 0,71$). Foram encontrados 4 valores abaixo da normalidade no grupo I e 6 no grupo II.

Zimosan / Soro Normal:

A média dos valores para o índice fagocitário de partículas de zimosan incubadas com soro humano normal foi de 71,33 no grupo I (DP = 20,74) e de 56,06 (DP = 26,97) no grupo II. Seis indivíduos do grupo controle apresentaram valores abaixo da faixa de normalidade, e a média do grupo também esteve abaixo do esperado. Estatisticamente não houve diferenças significativas entre os dois grupos ($t = 1,43$, $P = 0,16$).

Zimosan / Soro de Paciente:

O índice médio de fagocitose de partículas de zimosan incubadas com soro de paciente foi de 72,08 (DP = 24,40) para grupo I , e de 56,30 (DP = 31,69) para grupo II. Vemos então que a média do grupo II encontra-se abaixo da normalidade. Entretanto, não houve diferença significativa entre os grupos ($t = 1,24$, $P = 0,22$).

Hemácias de Carneiro Opsonizadas (Ea):

A média dos índices fagocitários para hemácias de carneiro opsonizadas foi de 56,36 (DP = 26,98) em grupo I e de 44,04 (DP = 22,50) em grupo II. As médias situam-se dentro da normalidade, não tendo diferenças significativas entre os grupos ($t = 1,08$, $P = 0,29$).

TABELA 07 - índice Fagocitário para Partículas de Zimosan (Zm) e Ea (Hemácias de Carneiro Opsonizadas) nos Grupos I e II.

	Zm-MEIO	Zm-SN	Zm-SP	Ea
Valores Normais	(11-49)	(66,5-96,6)		(39-94,5)
Paciente				
GRUPO I				
01-DF	5,436	89,343	89,710	33,783
02-JBHS	26,970	98,056	94,969	80,397
03-GF	22,553	79,044	90,305	-
04-ASM	13,144	60,975	81,728	82,562
05-LC	36,156	60,582	55,727	48,536
06-HPS	6,993	67,434	73,860	21,172
07-MGM	4,627	68,017	64,139	54,048
08-TMP	29,817	85,096	85,313	90,98
09-ALA	4,051	79,245	72,905	74,431
10-MBS	3,016	25,606	12,160	21,380
Média I	15,27	71,33	72,08	56,36
GRUPO II				
11-JCA	8,760	70,921	78,448	41,139
12-LCP	40,442	44,741	3,061	60,470
13-PJA	11,936	58,604	48,837	42,136
14-JGC	2,747	70,252	83,202	40,459
15-PZ	9,800	98,944	94,581	39,470
16-GRT	1,935	2,603	6,869	67,407
17-EKA	20,500	82,625	86,525	88,562
18-CL	27,015	53,567	48,522	23,444
19-MNT	1,418	42,019	51,336	20,087
20-IM	7,781	36,385	61,662	17,307
Média II	13,23	56,06	56,30	44,04

ZM-SN - fagocitose de partículas de zimosan incubadas com soro humano normal, ZM-SP - fagocitose de partículas de zimosan incubadas com soro de paciente, Ea - fagocitose de hemácias de carneiro opsonizadas.

Capacidade Fagocitária (CF):

Zimosan / Meio:

A capacidade fagocitária média de monócitos para partículas de zimosan incubadas com meio foi de 143,1 partículas em 100 células (DP = 36,20) no grupo I , e de 135,93 (DP = 17,56) no grupo II. A média do grupo II situa-se abaixo da normalidade. Estatisticamente os grupos são semelhantes ($t = 0,56$, $P = 0,58$).

Zimosan / Soro Normal:

O número médio de partículas de zimosan incubadas com soro humano normal fagocitadas por 100 células foi de 237,3 no grupo I (DP = 61,36), e de 223,3 (DP = 60,36) no grupo II. A média dos dois grupos encontra-se abaixo da normalidade, e não apresentaram diferença significativa ($t = 0,51$, $P = 0,61$).

Zimosan / Soro de Paciente:

A média de partículas de zimosan incubadas com soro de paciente fagocitadas por 100 células foi de 227,5 (DP = 39,5) em grupo I , e de 203,7 (DP = 41,5) em grupo II. Ambos os grupos tem características semelhantes, com valores abaixo da normalidade ($t = 1,31$, $P = 0,20$).

Hemácias Opsonizadas (Ea):

A média de Ea fagocitadas por 100 células foi de 185,3 (DP = 46,37) no grupo I , e de 169,73 (DP = 41,24) no grupo II. A média do grupo II encontra-se abaixo da normalidade. Não houve diferença significativa entre os dois grupos ($t = 0,79$, $P = 0,43$). Os resultados estão na tabela 08.

TABELA 08 - Capacidade Fagocitária de monócitos nos grupos I e II. Provas realizadas com eritrócitos de carneiro sensibilizados (Ea) e partículas de zimosan incubadas com meio (Zm-meio), soro normal (Zm-SN) ou soro do paciente (Zm-SP). Os valores expressam o número de partículas fagocitadas por cem células.

PACIENTE	Zm-MEIO (138-267)	Zm-SN (340-730)	Zm-SP	Ea (180-380)
GRUPO I				
01-DF	126	257	274	243
02-JBHS	206	175	269	209
03-GF	125	258	254	243
04-ASM	112	174	201	134
05-LC	204	386	281	208
06-HPS	115	227	208	154
07-MGM	114	258	184	148
08-TMP	124	212	200	222
09-ALA	166	232	230	113
10-MBS	139	194	174	179
Média I	143,1	237,3	227,5	185,3
GRUPO II				
11-JCA	150	198	220	133
12-LCP	146	246	142	166
13-PJA	145	187	185	109
14-JGC	125	253	221	208
15-PZ	124	356	276	132
16-GRT	106	162	164	174
17-EKA	122	278	256	207
18-CL	167	173	190	246
19-MNT	130	177	172	158
20-IM	144	203	211	164
Média II	135,93	223,3	203,7	169,73

ZM-SN - fagocitose de partículas de zimosan incubadas com soro humano normal, ZM-SP - fagocitose de partículas de zimosan incubadas com soro de paciente, Ea - fagocitose de hemácias de carneiro opsonizadas.

12. Testes Cutâneos para Avaliação da Imunidade Celular:

P.P.D.:

O valor médio de enduração para o PPD foi de 13mm (DP = 5,45) no grupo I, e de 11,8mm no grupo II (DP = 6,76). Apenas 2 pacientes do grupo I apresentaram reatividade fraca à este antígeno. Não houve diferença significativa entre os dois grupos ($t = 0,54$, $P = 0,59$).

Candidina:

A média de diâmetro de enduração encontrada para o grupo I foi de 3,85 mm (DP = 4,93) no grupo I, e de 3,4 mm (DP = 4,47) em grupo II. Não houve diferença significativa para os dois grupos (teste exato de Fischer = 0,08), considerando-se reatores (diâmetro da enduração maior que 5 mm) e não reatores.

Tricofitina:

A média encontrada em grupo I foi de 3,6 mm (DP = 4,74), e de 5,75 mm (DP = 6,88) em grupo II. Não houve diferença significativa entre os dois grupos ($Z = 0,56$, $P = 0,57$).

Estreptoquinase / Estreptodornase(Sk/sd):

Este teste foi realizado em 8 indivíduos do grupo I e a média obtida foi de 0,87 mm (DP = 1,80) e verificou-se ausência de reação nos 4 casos testados do grupo II. Não houve diferença estatística

entre os dois grupos, com pouca reatividade em ambos ($Z = 0,67$, $P = 0,49$).

DNCB₂₀₀₀:

A média de diâmetro de endureção para o DNCB₂₀₀₀ foi de 7,77 mm no grupo I (DP = 6,119), e de 12,44 mm (DP = 3,74) no grupo II. Não houve diferença significativa entre os grupos ($Z = -1,45$, $P = 0,14$). Compareceram para leitura 9 pacientes do grupo I e 8 pacientes do grupo controle.

DNCB₅₀:

A média de diâmetro de endureção para o DNCB₅₀ foi de 5 mm (DP = 6,04) no grupo I, e de 2,77 mm (DP = 4,29) no grupo II. A leitura foi realizada em 9 pacientes de ambos os grupos. Não houve diferença significativa entre os dois grupos ($Z = 0,839$, $P = 0,40$).

TABELA 09 -- Reações Cutâneas do Tipo Hipersensibilidade Tardia em Pacientes e Controles, em mm de Enduração.

Paci- ente	PPD	Trico fitina	Candi- dina	SK/SD	DNCB ₂₀₀₀ (mm)	DNCB ₅₀ (mm)
GRUPO I						
01-DF	5	12	6	5	11	zero
02-JBHS	13	11	zero	zero	11	10
03-GF	12	zero	zero	zero	10	10
04-ASM	5	zero	9	NR	14	11
05-LC	19	zero	zero	zero	zero	zero
06-HPS	14	zero	zero	zero	15	14
07-MGM	14	7	2	zero	zero	zero
08-TMP	11	3	8	2	NR	NR
09-ALA	20	zero	zero	zero	9	zero
10-MBS	20	3	13,5	NR	zero	zero
Média I	13	3,85	3,6	0,87	7,77	5
GRUPO II						
11-JCA	17	17	5	zero	12	10
12-LCP	14	13	7	zero	NR	NR
13-PJA	18	5	16	NR	8	zero
14-JGC	11	zero	12	zero	12	zero
15-PZ	zero	zero	10	NR	10	9
16-GRT	18	14,5	14	NR	10	zero
17-EKA	15	8	3	zero	17	6
18-CL	zero	zero	7	NR	11	zero
19-MNT	10	zero	7	NR	20	zero
20-IM	15	zero	3	NR	12	zero
Média II	11,8	8,4		zero	12,44	2,77

NR - não realizado, SK/SD - estreptoquinase/estreptodornase, DNCB - dinitroclorobenzeno.

12. Alterações Radiológicas:

A avaliação radiológica foi possível em 9 casos de grupo I. Foram encontrados 7 pacientes com estadio III, 1 com estadio II e 1 com estadio I. Houve predominância importante de lesões pulmonares extensas.

Os 10 pacientes do grupo II tiveram suas radiografias classificadas, com 4 casos de estadio III, 3 de estadio II e 3 com estadio I.

Como se poderia esperar, constatamos que quanto maior o tempo de doença (grupo I) mais extensa a lesão pulmonar.

TABELA 10 - Estadiamento Radiológico (segundo Kardjito) nos indivíduos dos Grupos I e II.

GRUPO I		GRUPO II	
Paciente	Estadio	Paciente	Estadio
01-DF	III	11-JCA	II
02-JBHS	III	12-LCP	II
03-GE	III	13-PJA	II
04-ASM	III	14-JGC	I
05-LC	I	15-PZ	III
06-HPS	III	16-GRT	III
07-MGM	III	17-EKA	I
08-TMP	II	18-CL	I
09-ALA	III	19-MNT	III
10-MBS	-	20-IM	III

IV - DISCUSSÃO

IV. Discussão

Ainda na atualidade, a tuberculose pulmonar permanece como um grave problema de Saúde Pública, principalmente nos países em desenvolvimento. No entanto, sua incidência está aumentando também nos países desenvolvidos, principalmente em função do crescente número de casos da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA)(Brudney & Dobkin, 1991; Perriens e col, 1991) . A precocidade no diagnóstico e o tratamento bem supervisionado da tuberculose é essencial para evitar a disseminação do bacilo. Por isso, a elucidação das causas de falência de tratamento de pacientes crônicos motivou esta pesquisa.

Considerou-se de grande importância que os grupos comparados fossem homogêneos quanto à distribuição de idade, sexo, e atividade da doença. A procura de indivíduos para o grupo controle obedeceu rigorosamente à este critério.

Como característica inerente à refratariedade de tratamento, o tempo de doença dos pacientes do grupo I foi maior que os do grupo II. Este fato não foi explicado por irregularidade de medicação ou positividade para o vírus da Imunodeficiência Humana (H.I.V.).

A tipagem da micobactéria e obtenção do antibiograma foi possível na maioria dos casos do grupo I, sempre com a comprovação do *Micobacterium tuberculosis*. Os resultados dos antibiogramas mostram que, com exceção de um caso (6-HSP), houve, em algum momento, sensibilidade a algum dos fármacos testados. Questionou-se então que a

resistência medicamentosa não fosse o fator inicial de insucesso, mas sim uma consequência do uso prolongado de tuberculostáticos, com tempo suficiente para a seleção de mutantes resistentes. Cabe ressaltar que todos os pacientes do grupo tiveram seu seguimento apenas após a verificação da falência de tratamento, e que a regularidade no uso das drogas só pôde ser verificada nesta fase. No entanto, sabemos que um tratamento inicialmente mal conduzido possibilita o aparecimento de resistência medicamentosa (Silva e col., 1986). A constatação de resistência múltipla às drogas testadas corresponde a uma paciente diabética insulino-dependente (caso 6), de difícil controle. Essa doença diminui as defesas do hospedeiro, causando defeitos de quimiotaxia, fagocitose e atividade bactericida dos fagócitos. Segundo Araújo e col (1990), a prevalência de diabetes em centros de tratamento de tuberculose varia de 2,3 à 10,9% e há uma tolerância alterada à glicose em 13 à 41% dos tuberculosos. A frequência de recidiva encontrada nesses indivíduos é de 9,4 à 17,5%. Observações semelhantes foram feitas por Picon e col, 1988.

No hemograma, a série vermelha revelou a ocorrência de anemia em 20% dos casos, coincidindo com a ocorrência de hemoptise e escarros hemoptóicos (casos 10 e 19) e baixo nível sócio-econômico (casos 4 e 10). Não foram realizadas dosagens de ferro sérico para confirmar se a anemia era ferropriva ou decorrente de doença crônica.

Foram observamos valores de leucócitos significativamente maiores no grupo com refratariedade ao tratamento. Segundo Wintrobe (1987), a leucocitose não ocorre usualmente na tuberculose, mas está relacionada

à processos infecciosos localizados. A cronicidade da infecção nesses pacientes justifica um maior estímulo à produção de leucócitos.

A distribuição relativa dos leucócitos mostrou que o aumento acontece às custas de polimorfonucleares segmentados. Estas células são consideradas ineficazes para a defesa frente ao bacilo da tuberculose, porém respondem aos fatores quimioatraentes liberados no local de infecção, e contêm enzimas lisossomais, as quais estão envolvidas na patogenia da doença, causando maior destruição tecidual (Samter e col, 1988).

A presença de eosinofilia sanguínea em pacientes tuberculosos é descrita por Hopewell (1990). Os resultados aqui apresentados demonstraram valores elevados. Entretanto, apenas 6 dos 20 pacientes realizaram os exames protoparasitológicos ,havendo 2 positivos para *Ancylostoma* (casos 14 e 20). Observou-se concomitância de parasitose e eosinofilia em um caso, mas a falta de avaliação adequada em todo o grupo impede a formulação de outras considerações.

A linfopenia relativa foi verificada em 8 pacientes crônicos, estando em 3 desses casos também com os valores absolutos abaixo da normalidade. A presença de monocitose relativa tem sido descrita na literatura (Hopewell, 1990) mas a verificamos em apenas 3 casos do grupo II.

Níveis elevados de componentes do sistema complemento durante a fase de atividade da doença tem sido descrito por diversos autores

(Edwards & Kirkpatrick, 1986; Sai Baba e col., 1990). Sabe-se que a fagocitose da micobactéria ocorre via C₃ (Payne, Bellinger -Kawabara & Horwitz, 1987), e que a atividade hemolítica do complemento está ativada. A ocorrência de complexos imunes sem sintomas clínicos decorrentes da deposição dos mesmos sugere que a atividade hemolítica está eficazmente aumentada. O sistema complemento tem importante papel na quimiotaxia, opsonização e lise celular (Brown, 1991).

No entanto, não foi encontrado nesta pesquisa aumento maciço de C₃ ou C₄ e a média dos valores de CH₅₀ esteve no limite da normalidade nos dois grupos.

O papel dos anticorpos na imunidade para a tuberculose não é claro. A associação de doença severa e hipergamaglobulinemia é frequentemente observada. Não há indicação de que a imunidade humoral ocupe algum papel na resistência à tuberculose (Bates, 1982). Segundo a classificação de Lenzini (1977), quanto maior a resposta humoral, menor a imunidade celular, e pior o prognóstico. No entanto, já foi constatado que os níveis séricos de anticorpos antimicobacterianos aumentam durante o tratamento bem sucedido, e que os pacientes tuberculosos com sorologias negativas tem piores prognósticos (Edwards & Kirkpatrick, 1986). Figueiredo & Machado (1992) documentaram menor produção de anticorpos anti-*Mycobacterium* em pacientes portadores de SIDA.

Há relatos de aumento de todas as classes de imunoglobulinas na tuberculose. Inicialmente, há um aumento de IgM, com persistência de

elevação de IgG. A hipersecreção de IgA está relacionada com atividade da doença. A elevação de IgE também é encontrada com frequência (Edwards & Kirkpatrick, 1986; Yong e col, 1989; Wong & Saha, 1990). Os exatos mecanismos de modulação desta ativação policlonal não são conhecidos. Se há definição de padrões benéficos de resposta imune em modelos experimentais para outras doenças causadas por bactérias intracelulares, como a leishmaniose (onde o predomínio de resposta celular (TH₁) acontece nos casos de evolução favorável e o de resposta humoral (TH₂) está associado ao insucesso), o mesmo não ocorre com a tuberculose.

Foram observados níveis séricos de IgA significativamente mais elevados no grupo com refratariedade à doença. Tal fato tem sido verificado na literatura, com maior associação à atividade da doença do que com a forma clínica de apresentação (miliar, cavitária, extrapulmonar). Neste estudo, o grupo controle selecionado corresponde à indivíduos em fase precoce do tratamento (portanto, ainda com tuberculose em atividade), com IgA sérica elevada, porém significativamente menor do que no grupo II. Sugere-se que a hipersecreção de IgA do grupo I esteja diretamente relacionada com a cronicidade da infecção nesses pacientes. Especula-se também que essa ocorrência seja secundária ao processo inflamatório crônico pulmonar, no qual há produção de TNF - alfa, que é antagonizado pelo TGF - beta. Sabendo-se que o TGF - beta é responsável pelo "switching" para IgA (Schultz & Coffman, 1991), há possibilidade de que esta hipersecreção seja consequente à uma desregulação da resposta imune.

Altos níveis séricos de IgA são observados também nas hepatopatias. Entre os pacientes do grupo I, 7 realizaram dosagens de transaminases (TGO/TGP), sempre com resultados dentro da normalidade. No grupo II, 9 pacientes realizaram tais exames, com 3 resultados acima da normalidade para a TGO (com valor máximo de 44u/l), e 5 valores acima da normalidade para a TGP (valor máximo de 49 u/l). Tais elevações são, no entanto, comuns no início do tratamento com esquema triplice, havendo normalização subsequente. Quanto à enzima *gama* - GT, esteve elevada em apenas um caso do grupo I (foi realizada em 1 caso do grupo I e 4 do grupo II). A eletroforese de proteínas foi realizada em 3 casos, com o achado de hipoalbuminemia em 2 indivíduos (1 do grupo I e outro do grupo II). Das drogas antituberculose, principalmente a pirazinamida e a rifampicina podem causar hepatite, e a própria doença pode acometer o fígado. Baldi e col., 1988, avaliaram a função hepática em 29 pacientes com tuberculose pulmonar em uso de esquema triplice, e encontraram pouca alteração de bilirrubinas e fosfatase alcalina (FA), e maior sensibilidade a *gama* - GT e ácidos biliares. Esse autor realizou biópsia hepática em 9 casos, e não encontrou correlação entre dados bioquímicos e achados histológicos.

Em relação às outras imunoglobulinas, foi observada hipersecreção de IgM em ambos os grupos; níveis séricos de IgG maiores no grupo I (mas sem relevância estatística); o aumento de IgE sérica também foi observado em pacientes e controles. Tal ocorrência foi verificada mesmo nos 3 indivíduos que apresentaram o exame protoparasitológico negativo. A não realização de protoparasitológico de fezes pela

maioria dos pacientes não possibilita atribuir esta alteração exclusivamente à tuberculose.

Tem sido descrita a ocorrência de complexos imunes circulantes em pacientes com tuberculose, compostos por IgG, IgA, IgM e antígenos micobacterianos. Esse fato parece estar relacionado com a virulência do *M.tuberculosis* e a formação do granuloma (Edwards & Kirkpatrick, 1986). Kerdjito & Grange (1980), estudando 90 pacientes bacilíferos, constataram a existência de positividade do fator reumatóide em 21% dos casos e associação significativa com altos níveis de IgM anti-*M.tuberculosis*.

Um possível relacionamento entre infecção por micobactérias e a gênese de doenças autoimunes (especialmente a artrite reumatóide) tem sido aventada por vários autores (Shoenfeld & Isenberg, 1988; Lydiard e col, 1991; Kiessling e col, 1991). A homologia estrutural entre a hsp65 da micobactéria e a hsp58 mitocondrial humana é grande, havendo então grande risco de reação cruzada para as mesmas, o que poderia gerar auto-imunidade.

Os monócitos dos pacientes com refratariedade apresentaram maior capacidade de migração que os do grupo controle, quando incubados com soro normal. No entanto, a mesma diferença não foi verificada ao se utilizar o soro do paciente, sugerindo que a migração estimulada com fatores quimiotáticos gerados a partir do soro do paciente está diminuída. É possível que esta redução na migração decorra da presença

de fatores séricos inibidores, uma vez que a migração espontânea é semelhante em ambos os grupos, excluindo portanto um defeito celular.

A presença de fatores séricos inibidores da quimiotaxia tem sido descrita na tuberculose. Edwards & Kirkpatrick (1986) relatam defeitos de quimiotaxia de monócitos durante a atividade da doença. Samter (1988) descreve a ocorrência de uma substância plasmática termo-estável, de peso molecular aproximado de $2,3 \times 10^5$ daltons, e de um fator solúvel termo-estável não dialisável, capazes de diminuir a migração leucocitária em pacientes com tuberculose. Não se pode inferir até que ponto este evento seja consequente às proteínas liberadas ou constituintes da micobactéria, ou seja secundário à própria infecção, induzindo aberrações que possam driblar as defesas do hospedeiro, em benefício do bacilo.

Não foram observados diferentes padrões de comportamento para a fagocitose de zimosan ou Ea nos dois grupos. No entanto, os valores abaixo da normalidade foram observados com maior frequência exatamente no grupo que apresentou boa evolução. Assim, a falência de tratamento não pode ser explicada por deficiência de fagocitose.

Quanto ao número de partículas fagocitadas por 100 células (capacidade fagocitária), os valores baixos ocorreram na maioria dos casos, em ambos os grupos. Supõe-se que esta alteração aconteça de maneira geral na doença, não sendo específica dos casos que apresentaram falência de tratamento, e que talvez seja decorrente da ação de constituintes micobacterianos sobre a membrana celular, que

atue como mecanismo de escape. A ação lisossomotrópica dos sulfatídeos pode estar implicada nesta situação.

Nos testes cutâneos para imunidade celular, verifica-se que reações fracas ou negativas ao PPD ocorreram com a mesma frequência em ambos os grupos. Todos os pacientes crônicos foram capazes de desenvolver reações cutâneas de hipersensibilidade ao PPD (2 reatores fracos). Ao mesmo tempo, a frequência de reação maior que 10 mm para os outros antígenos foi eventual. Tais achados são semelhantes aos descritos por Ellner, 1978.

Quanto ao DNCB, os indivíduos se sensibilizaram à dose de 2.000 microgramas, mas apenas 7 casos (de 10 indivíduos testados) responderam à segunda dose de 50 microgramas.

A reatividade cutânea para antígenos de extrato tuberculínico proteico purificado (PPD) reflete hipersensibilidade ao bacilo da tuberculose e conota infecção prévia. A exata correlação entre hipersensibilidade à tuberculina e imunidade à tuberculose não está bem definida até o momento. As primeiras observações sobre este fenômeno foram feitas por Koch há aproximadamente cem anos, mas o assunto permanece controverso até o momento. Várias pesquisas apontam para a dissociação entre imunidade adquirida à tuberculose e hipersensibilidade à tuberculina (Youmans, 1975).

Apesar destas constatações, permanece a noção de que a imunidade antituberculose não pode expressar-se adequadamente na ausência do fenômeno de hipersensibilidade tardia. A negatividade ao PPD (anergia)

é observada sobretudo em pacientes com tuberculose miliar. Lenzini e col. (1977) à partir da observação da reatividade ao PPD e formas clínicas da doença, propuseram uma classificação análoga à aplicada na lepra, na qual um pior prognóstico está associado à anergia cutânea. A reatividade à outros antígenos que não os da tuberculose também foi investigada durante a infecção pelo *M. tuberculosis*.

Malaviya e col. (1975) estudaram a capacidade de sensibilização ao DNCB em 54 pacientes com tuberculose pulmonar em tratamento, havendo negatividade em 61% dos casos (essa porcentagem não foi alterada significativamente quando se excluiu o uso de tuberculostáticos concomitantes ao exame). A porcentagem de resposta ao PPD e estreptoquinase/estreptodornase (Sk/Sd) foi negativa em apenas 14% desses casos. A incapacidade de sensibilização ao DNCB foi encontrada predominantemente na fase de atividade da doença, e a concomitância com reatividade ao PPD e Sk/Sd sugerem a possibilidade de um defeito na via aferente da resposta imune nesta fase da doença. O pequeno percentual de resposta ao DNCB 50 microgramas no presente trabalho coincide com estes achados.

Bhatnagar e col. (1977) correlacionaram testes cutâneos para hipersensibilidade tardia (PPD e DNCB), subpopulações de linfócitos T periféricos, teste de migração leucocitária, níveis de imunoglobulinas séricas e de anticorpos (Ac) anti-PPD, e formas clínicas de tuberculose. O grupo de pacientes com disseminação miliar apresentou menor reatividade ao PPD e DNCB, menor número de células T, maior número de células nulas, menor migração leucocitária, concentrações séricas de proteínas totais e albumina mais baixas e maior nível de

anticorpo anti-PPD que os indivíduos com tuberculose pulmonar (não miliar). Foi observado ainda que essas alterações estão relacionadas à atividade da doença, sendo potencialmente reversíveis após o terceiro mês de quimioterapia. Os pacientes com tuberculose pulmonar não miliar apresentaram maior número de linfócitos B e migração leucocitária semelhante à de indivíduos normais. Neste trabalho, o nível de IgA sérica correlacionou-se apenas com a atividade da doença, independentemente da forma clínica. A reatividade cutânea ao PPD e níveis séricos de Ac anti-PPD estudada por Fonseca e col.(1992) em indivíduos com tuberculose demonstrou uma correlação inversa entre os Ac e a reatividade cutânea ao PPD. A ocorrência de anergia ao PPD associada às formas disseminadas (miliares) também foi assinalada por estes autores.

Ptchappan e col. (1991) estudaram a reatividade cutânea ao PPD em indivíduos saudáveis cronicamente expostos à infecção (enfermeiras e estudantes de hospital universitário) e encontraram níveis de Ac anti-PPD significativamente mais elevados nos indivíduos não reatores. Foi observada também uma correlação inversa entre a reatividade ao PPD e níveis séricos de IgG, IgM e IgA. Documentou-se através deste estudo que há diferenças de imunorreatividade em população saudável altamente exposta à infecção pelo *M. tuberculosis*, provavelmente determinada geneticamente.

Beppu e col.(1980), estudaram o comportamento da reação tuberculinica em 165 pacientes com baciloscopia positiva, e encontraram uma correlação inversa entre extensão de lesões pulmonares

visualizadas ao raio-X e a reação de mantoux. Tal fato não foi observado entre os pacientes ou controles desta pesquisa (apenas um paciente com estadio radiológico III apresentou PPD não reator).

Através das radiografias de tórax, podemos documentar o tipo de lesão pulmonar de maneira qualitativa e quantitativa. O comportamento das sombras das estruturas torácicas nos fornecem imagens que tornam possível a correlação histopatológica. Assim, podemos encontrar condensações alveolares (de localização preferencial nos segmentos apical e posterior do lobo superior, ou segmento superior do lobo inferior), nódulos com calcificações (granulomas calcificados), sombras puntiformes de localização intersticial (tuberculose miliar). Outras alterações radiológicas também podem ocorrer, consequentes à bronquectasias, broncoestenose, tuberculoma, etc. A atividade da doença não pode ser verificada radiologicamente, sendo necessária a realização de baciloscopias e culturas (Fraser & Paré, 1981).

No presente trabalho, todos os pacientes do grupo I mostraram alterações radiológicas compatíveis com a ocorrência de reação granulomatosa (cavitações ou nódulos correspondentes à granulomas não escavados). Portanto, todos esses pacientes foram capazes de resposta celular, com liberação de interleucinas características da subpopulação Th1 (TNF - *alfa*, interferon - *gama*,). Sabemos que o TNF - *alfa* possui amplos efeitos inflamatórios que podem contribuir para a patologia da doença, com destruição tecidual e caquexia. Talvez uma hipersecreção dessa interleucina seja seguida de maior liberação de

TGF - *beta*, que é seu antagonista, explicando assim os altos níveis de IgA sérica encontrados durante a fase de atividade da doença.

Assim, observa-se evidências de que a resposta imune encontra-se por vezes exacerbada. A hiper-resposta do hospedeiro pode ter consequências favoráveis à micobactéria (aumento do crescimento da micobactéria IC por aumento de IFN-*gamma*: hipersecreção de IL₁ com resultados supressores, entre outros). Neste contexto, a própria patologia passa a ser consequência dos mecanismos protetores (Grau & Modlin, 1991).

Arnold Rich, em 1946, descreveu sobre o interrelacionamento entre a lesão tecidual e as características do bacilo e do hospedeiro. E já assinalou que a hiper-resposta imune implica numa maior destruição de parênquima. Quase cinquenta anos depois, os exatos mecanismos de lesão, defesa e regulação imune que ocorrem na tuberculose não estão totalmente conhecidos. A dificuldade de se obter situações similares às que ocorrem *in vivo* no ser humano constitui um obstáculo para a obtenção da resposta.

A interrelação entre interleucinas, subpopulações de células T e regulação da imunidade não está ainda plenamente estabelecida, e novos estudos se impõem, bem como da constituição genética (HLA).

A verificação neste trabalho de que os fagócitos mononucleares estão estimulados, e são capazes de fagocitar com a mesma eficiência em ambos os grupos, não acrescenta novas possibilidades terapêuticas.

A ocorrência de um extenso processo inflamatório crônico não sugere o uso de corticosteróides devido a maior associação encontrada entre o seu uso e o aparecimento da doença. Por outro lado, as próprias drogas antituberculoze podem ter ação sobre a quimiotaxia e imunomodulação. Cruz e col.,1988, ponderam que a discrepância entre a atividade tuberculostática da pirazinamida "in vitro" e "in vivo" observada por Goodman & Gilman (1981), possa ser consequente à um efeito de modulação de resposta imune.

Finalizando, é muito provável que a modulação da resposta imune seja o fator essencial para o tratamento bem sucedido, e que as alterações desta modulação estejam diretamente relacionadas ao tempo e extensão da doença.

V. Resumo e Conclusões:

Para avaliar as causas de falência de tratamento em pacientes com tuberculose crônica sob tratamento específico (grupo I), foram realizados hemogramas; tipagem e culturas de micobactérias; estudo da migração e fagocitose de monócitos; dosagens séricas de IgA, IgE, IgG e IgM, de Cs, C4 e CH₅₀; testes cutâneos para avaliação de hipersensibilidade tardia (PPD, tricotina, candidina, Sk/Sd, DNCB 2.000 e 50 microgramas) e avaliação da extensão do acometimento pulmonar através do raio-X de tórax. O grupo controle foi constituído por pacientes que evoluíram para a cura em 6 meses (grupo II).

O grupo I (pacientes com falência de tratamento) apresentou resultados distintos do grupo II quanto à:

- Resistência à pelo menos uma droga em 6 pacientes e variação de sensibilidade no mesmo indivíduo. Esta sensibilidade parcial às drogas poderia ser a causa da persistência da doença, ou consequência da mesma.
- Elevação do número de leucócitos, às custas de polimorfonucleares.
- IgA sérica significativamente mais elevada, e diretamente relacionada com a extensão do acometimento radiológico do pulmão. Especula-se que esta hipersecreção de IgA possa ser

decorrente da maior produção de TNF - *alfa* e IFN - *gama* pelos macrófagos ativados e consequente liberação do antagonista TGF - *beta*, responsável pelo "switching" de IgM para IgA.

- Maior capacidade de migração de monócitos quando estimulados por fatores quimioatraentes gerados pelo soro normal.
- Maior extensão de acometimento pulmonar ao Rx de tórax.

O grupo I apresentou resultados semelhantes ao grupo II quanto à:

- Atividade hemolítica do complemento (CH₅₀) discretamente elevada.
- Níveis séricos elevados de IgM, IgG e IgE.
- Menor capacidade fagocitária de monócitos para partículas de zimosan incubadas com soro normal ou do paciente.
- Forte reatividade ao EFD, fraca para Sk/Sd, candidina e tricoftina, e reduzida sensibilização pelo DNCEB.

Os resultados obtidos permitem concluir que na tuberculose pulmonar:

- A atividade hemolítica do complemento sérico e as concentrações de IgM, IgG e IgE estão elevadas, independentemente se o paciente é ou não refratário ao tratamento.
- A IgA sérica é mais elevada nos pacientes refratários ao tratamento, e pode ser decorrente da maior extensão do acometimento pulmonar e, portanto, intensa atividade inflamatória crônica.
- A redução da capacidade fagocitária dos monócitos periféricos (via receptores Fc, CR3 e CR1) não distingue se o paciente é ou não refratário ao tratamento.
- A migração espontânea ou estimulada dos monócitos está preservada, havendo porém redução da migração no paciente refratário quando se utiliza soro do próprio paciente para geração de fatores quimioatraentes.
- A via eferente de resposta da reação de hipersensibilidade tardia está comprometida, exceto para o antígeno PPD.

VI. Referências Bibliográficas:

- APT, A.S.; KRAMNICK, I.B.; MOROZ, A.M. - Regulation of T-cell proliferative responses by cells from solid lung tissue of *M.tuberculosis* infected mice. *Immunology*, 73: 173-179. 1991.
- ARAGJO, L.M.B.; COSTA, M.S.; GARCIA, T.; PINHEIRO, E.; CRUZ Fq, A.; SILVA, I.S.; MARTINS, A.C.P. - Tuberculose e diabetes melito. *Jornal de Pneumologia*, 16(4): 193-196. 1990.
- BALDI, J.; SOUZA, A.F.M.; RIZZO, P.M.M.; SCHMITZ, J.L.B.; ALVES, T.N.P. - Avaliação hepática em pacientes com tuberculose pulmonar. *Jornal de Pneumologia*, 14(1):136. 1988.
- BATES, J.H. - Tuberculosis - Susceptibility and resistance. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 125(5): 20-24. 1982.
- BEIGUELMAN, B. - Curso Prático de Bioestatística. Soc. Bras. de Genética - 2ª edição. 1991.
- BEIGUELMAN, B.; RAMALHO, A.S.; ARENA; J.F.P.; GARLIPP, C.R. - Acetilação da isoniazida em brasileiros caucasóides e negróides com tuberculose pulmonar. *Rev. Paul. Med.*, 39: 12-15. 1977.
- BEKIERKUNST, A.; LEVI, I.S.; YARKONI, T.; VILKAS, E.; ADAM, A.; LEDERER, E. - Granuloma formation induced in mice by chemically defined mycobacterial fractions. *J.Bacteriol*, 100: 95-102. 1969.

VI - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

V — RESUMO E CONCLUSÕES

- BEPPU, O.S.; SILVA, C.O.S.; ROMALDINI, H.; HONSI, L.; SANTOS, M.L. -
Comportamento da reação tuberculina em pacientes com tuberculose
pulmonar e baciloscopia positiva no escarro. *Jornal de*
Pneumologia 6(2): 68-71, 1980.
- BERZOFKY, J.A.; BRETT, S.J.; STREICHER, H.Z. & TAKAHASHI, H. -
Antigen processing for presentation to T lymphocytes : functions,
mechanisms and implications for the T-Cell repertoire -
Immunological Reviews, 106: 8-31, 1988.
- BHATNAGAR, R.; MALAVIYA, A.N.; NARAYANAN, S.; RAJGOPALAN, P.; KUMAR,
R. & BHARADWAJ, O.P. - Spectrum of immune response abnormalities
in different clinical forms of tuberculosis. *Am. Rev. Respir.*
Dis. 115: 207-213, 1977.
- BHATTI, N.; CHRONOS, N.; WHITE, J.P.; LARSON, E. - A case of resistant
tuberculosis. *Tubercle*, 71: 141-143, 1990.
- BLOOM, B.R. & OLDSTON, M.B.A. - Immunity to infection. *Current*
Opinion in Immunology, 3: 453-454, 1991.
- BOLETIM DA CAMPANHA NACIONAL CONTRA A TUBERCULOSE - Avaliação das
atividades de controle da tuberculose realizadas no Brasil em
1987. Vol. 2, julho / dezembro 1988.
- BORN, W.; HAPP, M.P.; DALLAS, A.; REARDON, C.; KUBO, R.; SHINNICK, T.;
BRENNAM, P.; O'BRIEN, R. - Recognition of heat shock proteins and
gamma-delta cell function. *Immunology Today*, 11(2): 40-43, 1990.

- BORN, W.; KALATARADI, H.; MODLIN, R.L.; O'BRIEN, R.L. - The role of *gamma-delta* T lymphocytes in infection. *Current Opinion in Immunology*, 3: 455-459. 1991.
- BOYDEN JR, S. V. - The chemotatic effect of mixtures of antibody and antigen in polymorphonuclear leukocytes. *J. Exp. Med.*, 115: 453-466. 1962.
- BRACIALE, T.J. - Antigen processing for presentation by MHC class I molecules. *Current Opinion in Immunology*, 4: 59-62. 1992.
- BRACIALE, T.J.; MORRISON, L.A.; SWEETSER, M.T.; SAMBROOK, J.; GETHING, M.J.; BRACIALE, V.L. - Antigen presentation pathways to cl I and cl II MHC-restricted. T-lymphocytes. *Immunol. reviews*, 98: 95-114. 1987.
- BRAHMAJOTHI, V.; PITCHAPPAN, R.M.; KAKKANAIAH, V.N.; SASHIDHAR, M.; RAJARAM, K.; RAMU, S.; PALANIMURUGAN, K.; PARAMASIVAN, C.N.; PRABHAKAR, R. - Association of pulmonary tuberculosis and HLA in South India. *Tubercle*, 72: 123-132. 1991.
- BROWN, E.J. - Complement receptors and phagocytosis. *Current Opinion in Immunology*, 3: 76-82. 1991.
- BRUDNEY, K. & DOBKIN, J. - Resurgent tuberculosis in New York City. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 144: 745-749. 1991.
- CANETTI, G. - Present aspects of bacterial resistance in tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 29: 687-703. 1965.

- CARLOS, T.M. & HARLAN, J.M. - Membrane proteins involved in phagocyte adherence to endothelium. *Immunological Reviews*, 114: 5-28, 1990.
- CATALONA, W.J.; TAYLOR, P.T.; CHRETIEN, P.B. - Quantitative dinitrochlorobenzene contact sensitization in normal population. *Clin. Exp. Immunol* 12: 325, 1972.
- CHAPARRAS, S.P. - The immunology of mycobacterial infections. *CRC Crit. Rev. Microbiol* 9: 139-192, 1982.
- COLLINS, F.M. - The immunology of tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 125: 42-9, 1982.
- CORREA DA SILVA, L.C. - Compêndio de Pneumologia. Fundo Editorial EYK, 1991.
- CROFTON, J. - Fracasso del tratamiento de la tuberculosis pulmonar: causas posibles y como evitarlas. *Boletim de la Union Internacional Contra la tuberculosis*, vol. 55(3-4): 93-100, 1980.
- CRUZ, A.A.; MARTINS, A.C.P. ; BACELAR, O., CARVALHO, E. - Efeito da pirazinamida sobre a resposta imune celular humana. *Jornal de Pneumologia*. 14(2):70-76, 1988.
- DANIEL, T.M.; AFFRONTI, L.F. - Immuno-electrophoretic analysis of antigenic constituents of Seibert fractions of mycobacterial culture filtrates. Identification with the proposed United States Japan Reference nomenclature. *Am. Rev. Resp. Dis.* 108: 1244-1248, 1973.

- DANIEL, T.M.; JANICK, B.N. - Micobacterial antigens, a review of their isolation, chemistry and immunological properties. Microbiol Rev. 42: 85-113, 1978.
- DENIS, M. - Killing of Mycobacterium Tuberculosis within human monocytes: activation by cytokines and bacitracin. Clin. Exp. Immunol. 84: 200-206, 1991.
- DINTZIS, H.M. & DINTZIS, R.Z. - Antigens as immunoregulators. Immunological Reviews, 115: 244-250, 1990.
- DOOLEY, S.W.; JARVIS, W.R.; MARTONE, W.J.; SNIDER, D.E.Jr - Multidrug - resistant tuberculosis. Annals of Internal Medicine, 117(3): 257-258, 1992.
- DRAPER, P. - Proceedings of the Indo-Uk symposium on leprosy. JALMA, Agra, April, 1986, p.155.
- DUBOS, R. & DUBOS, J. - The White Plaque. Tuberculosis, Man and Society. Boston, Little, Brown and Company, 1952.
- EDWARDS, D. & KIRPATRICK, C.H. - The immunology of mycobacterial diseases. Am. Rev. Respir. Dis. 134: 1062-1076, 1986.
- ELLNER, J.J. - Suppressor adherent cells in human tuberculosis. The Journal of Immunology, 121(6): 2573-2579, 1978.

- FERRICK, D.A. & HERSCOWITZ, H.B. - Cell interactions in alveolar macrophage - mediated suppression of the immune response: an unusual suppressor pathway involving a populations of T-cells that express Lyt-1, LeT4 and I-J. *Cellular Immunology*, 118:183-194, 1988.
- FIGUEIREDO, J.F.C. & MACHADO, A.A. - Reduced anti-Mycobacterium tuberculosis antibody response in tuberculosis patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Brazilian J. Med. Res.*, 25: 611-618. 1992.
- FONSECA, L.S.; KRITSKI, A.; SANT'ANNA, C.; JANINI, M.C.; FERREIRA, M.A.S. & SAAD, M.H.F. - Relationship between immune response and clinical manifestation in patients with tuberculosis. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 25: 49-52. 1992.
- FRASER, R.G. & PARÉ, J.A.P. - Diagnóstico das doenças do tórax. Editora Manole, segunda edição, vol II, 1981.
- FUJIWARA, H.; KLEINHENZ, M.E.; WALLIS, R.S. & ELINER, J.J. - Increased interleukin - 1 production and monocyte suppressor cell activity associated with human tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 133: 73-77, 1986.
- GARLIPP, C.R. - Estudo do fenótipo acetilador da isoniacida em paulistas descendentes de japoneses. Tese de mestrado apresentada ao Instituto de Biologia da UNICAMP, 1980.

- GETTER, L.J.; O'BRIEN, R.J.; SNIDER, D.E. - Short-course chemotherapy of pulmonary tuberculosis: Preliminary results of USPHS therapy trial 21. *Am. Rev. Respir. Dis.* 133: A205. 1986.
- GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. - As bases farmacológicas da terapêutica. Guanabara Koogan, 4a Edição, vol II, 1981.
- GOREN, M.B. - Immunoreactive substances of mycobacteria. *Am. Rev. Resp. Dis.* 125(3,5): 50-69, 1982.
- GRAU, G.E. & MODLIN, R.L.- Immune mechanisms in bacterial and parasitic diseases: protective immunity versus pathology. *Current Opinion in Immunology*, 3: 480-486. 1991.
- GRIGG, E.R.N. - The arcana of tuberculosis with a brief epidemiologic history of the disease in the USA. Parts I and II. *Am. Rev. tuberc.* 78: 151. 1958.
- GRIGG, E.R.N. - The arcana of tuberculosis with a brief epidemiologic history of the disease in the USA. Parts III. *Am. Rev. tuberc.* 78: 426. 1958.
- GRIGG, E.R.N. - The arcana of tuberculosis with a brief epidemiologic history of the disease in the USA. Parts IV. *Am. Rev. tuberc.* 78: 583. 1958.
- HAHN, H. & KAUFMANN, S.H.E. - Role of cell mediated immunity in bacterial infections. *Rev. Infect. Dis.* 3: 1221-1250. 1981.
- HARDING, C.V. - Pathways of antigens - processing. *Current Opinion in Immunology*, 3: 3-9. 1991.

- HARDING, C.V.; LEYVA-COBIAN, F. & UNANUE, E.R. - Mechanisms of antigen processing. *Immunological Reviews*, 106: 78-91. 1988.
- HOBBY, G.L.; HOLMAN, A.P.; ISEMAN, M.D.; JONES, J.M. - Enumeration of tubercle bacilli in sputum of patients with pulmonary tuberculosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 4: 94-104. 1973.
- HOPEWELL, P.C. - Infectious diseases of the lungs. *Mycobacterial diseases*. pp 856-916. 1990.
- HOWARD, D.R.; EANES, A.C.; TAKEY, F. - Lymphocyte function-associated antigen (LFA1) is involved in B cell activation. *J. Immunol.* 136: 4013-4018. 1986.
- INA, Y.; TAKADA, K.; YAMAMOTO, M.; MORISHITA, M.; YOSHISKAMA, K. - Antigen-presenting capacity of alveolar macrophages and monocytes in pulmonary tuberculosis. *Eur. Respir. J.*, 4: 88-93. 1991.
- JANICKI, B.W.; CHAPARRAS, B.W.; DANIEL, T.M.; KUBRICA, G.P.; WRIGHT, G.L.; Jr. YEE, G.S. - A reference system for antigens of *Mycobacterium tuberculosis*. *Am. Rev. Resp. Dis.* 104: 602-604. 1971.
- KABAT, M. & MAYER, M. - Experimental immunochemistry. Springfield, Charles C. Thomas Publisher, p80-88. 1961.
- KARDJITO, T. & GRANGE, J.M. - Immunological and clinical features of smear-positive pulmonary tuberculosis in East Java. *Tubercle* 61: 231-238. 1980.
- KAUFMANN, S.H.E. - CD8 lymphocytes in intracellular microbial infections. *Immunology Today*, 9(6): 168-174. 1988.

- KAUFMANN, S.H.E. - Role of T-cell subsets in bacterial infections. *Current Opinion in Immunology*, 3: 465-470, 1991.
- KELLY, M.T. - Plasma dependent chemotaxis of macrophages toward ECG cell walls and the mycobacterial glycolipid Ps. *Infect Immunol* 15: 180-183, 1977.
- KHOMENKO, A.G.; LITVINOV, V.I.; CHUKAROVA, V.P.; POSPELOV, L.I. - Tuberculosis in patients with various HLA phenotypes. *Tubercle* 71: 187-192, 1990.
- KIESSLING, R.; GROMBERG, A.; IVANYI, J.; SODERSTROM, K.; FERM, M.; KLEIMAN, S.; NILSSON, E.; KLARESKOG, L. - Role of hsp60 during autoimmune and bacterial inflammation. *Immunological Reviews*, 121: 91-111, 1991.
- KRENSKY, A.M.; SANCHEZ - MADRID, F.; ROBBINS, K.; NAGY; SPRINGER, T.A.; BURAKOFF, S.J. - The functional signi destributtion and structure of LFA-1, LFA-2 and LFA-3: cell surface antigens associated with CTL-target interaction. *J. Immunol* 131: 611-616, 1983.
- KRITSKI, A.; ANDRADE, L.; JANINI, M.G.; GUIMARÃES, C.A.; ANDRADE, E.; ANDRADE, G.N. - Tuberculose Pulmonar Recorrente - Análise de 100 casos. *Jornal de Pneumologia*, 12(51): 51, 1986.
- LAZZARI, A.A. - Inibição da fagocitose via Fc em monócitos humanos pelo soro de portadores de Doença Reumatóide Clássica. São Paulo, 1980 (Tese de Mestrado - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo).

- LENZINI, L.; ROTTOLI, P.; ROTTOLI, L. - The spectrum of human tuberculosis. *Clin. Exp. Immunol.* 27: 330. 1977.
- LOWRIE, D.B. & ANDREW, P.W. - Macrophage antimycobacterial mechanisms. *British Medical Bulletin.* 44(3): 624-634. 1988.
- LOWRIE, D.B. - Is macrophage death on the field of battle essential to victory, or a tactical weakness in immunity against tuberculosis? *Clin. Exp. Immunol.* 80: 301-303. 1990.
- LUCAS, S.B. - Histopathology of leprosy and tuberculosis - an overview. *British Medical Bulletin.* 44(3): 584-599. 1988.
- LYDIARD, P.M.; ROOK, G.A.; TSOULFA, G.; SHARIF, M.; SMITH, M. - Is there a role for mycobacteria in the etiopathogenesis of rheumatoid arthritides? *Immunological Reviews.* 121: 138-153. 1991.
- MALAVIYA, A.N.; SELGAL, R.; KUMAR, R. & DINGLEY, H.B. - Factors of delayed hipersensibility in pulmonary tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 112: 49-52. 1975.
- MANCINI, G.; CABONARA, A.; HEREMANS, J.F. - Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodifusion. *Immunochemistry.* 2: 235-254. 1965.
- MASUDA, A. - Avaliação dos sistema fagocitário mononuclear na hanseníase. *Tese de Doutorado da Escola Paulista de Medicina.* São Paulo, 1977.

- MAYERNIK, D.G.; UL-HAG-A.; RINEHART, J.J. - Differentiation-associated alteration in human monocyte-macrophage accessory cell function. *J. Immunol.* 139: 2156-2160. 1988.
- MINNIKIN, D.E. - Lipids: complex lipids, their chemistry, biosynthesis and roles. In: Ratledge C, Stanford J. eds. *Biology of the Mycobacteria*. vol 1. London: Academic Press 1982. pp 95-184.
- MOSMANN, T.R.; COFFMAN, R.L. - Heterogeneity of cytokine secretion patterns and functions of helper T cells. *Adv. Immunol.* 46: 111-147. 1989.
- NACY, C.A.; MELTZER, M.S. - T-Cell-mediated activation of macrophages. *Current Opinion in Immunology*. 3: 330-335. 1991.
- NAGERET, P. & PIETRES, M. - Cell-surface enzymes and lymphocytes functions. *Current Opinion in Immunology*. 3: 326-329. 1991.
- NASPITZ, C.K.; SOLÉ, D.; SAMPAIO, M.C.; GONZALEZ, C.H. - Níveis séricos de IgG, IgM, IgA em crianças brasileiras normais. *J. Ped.* 32(3): 121-126. 1982.
- O'BRIEN, R.L.; HAPP, M.P.; DALLAS, A.; CRANFILL, R.; HALL, L.; LANG, J.; YANG-XIN-FU; KUBO, R.; BORN, W. - Recognition of a single HSP-60 epitope by an entire subset of *gamma*-delta T lymphocytes. *Immunological Reviews*. 121: 155-169. 1991.
- OFEC, I. & BEKIERKUNST, A. - Chemotactic response of leukocytes to cord factor (trehalose - 6,6 - dimycolate). *J. Natl. Cancer inst.* 57: 1379-1381. 1976.

OPS - OMS - Tuberculosis en la América. Mortalidad e morbilidad, 1987.

ORME, I. - Processing and preservation of mycobacterial antigens: implication for the development of a new improved vaccine for tuberculosis control *Tubercle*, 72: 250-252, 1991.

PAYNE, N.R.; BELLINGER - KAWAHARA, C.G.; HORWITZ, M.A. - Phagocytosis of *M.tuberculosis* by human monocytes is mediated by receptor for the third component of complement. *Clinical research*, 35(3): 617A, 1987.

PEARSON, M.L.; JEREB, J.A.; FRIEDEN, T.R.; CRAWFORD, J.T.; DAVIS, B.J.; DOOLEY, S.W.; JARVIS, W.R. - Nosocomial transmission of multidrug - resistant *M.tuberculosis*. *Annals of Internal Medicine*, 117(3): 191-196, 1992.

PERRIENS, J.H.; COLEBUNDERS, R.L.; KARAHUNGA, C.; WILLAME, J.C.; JEUGMANS, J.; KABOTO, M.; MUKADI, Y.; PAUWELS, P.; RYDER, R.W.; PRIGNOT, J.; PIOT, P. - Increased mortality and tuberculosis treatment failure rate among HIV seropositive compared with HIV seronegative patients with pulmonary tuberculosis treated with "Standard" chemotherapy in Kinshasa, Zaire. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 144: 750-755, 1991.

PICON, P.D.; SCATOLLIN, I.; RIZZO, C.F.C.; HILHIG, A.; KONPINSKI, E. - Diabete e tuberculose. Experiência do hospital Sanatório Partenon. *Jornal de Pneumologia*, 14(S_nº_1): 137, 1988.

- PITCHAPPAN, R.M.; BRAHMAJOTHI, K.; RAJARAM, K.; THIRUMALAI KOLUNDU SUBRAMANYAM, P.; BALAKRISHNAN, K. & MUTIRIVEERALA KSHMI, R. - Spectrum of immune reactivity to mycobacterial (BCG) antigens in healthy hospital contacts in South India. *Tubercle*.72: 133-139. 1991.
- RAMANATHON, V.D.; CURTIS, J.; TURK, J.L. - Activation of the alternative pathway of C by mycobacteria and cord factor. *Infect Immun* 29: 30-35, 1980.
- RICH, A.R. - *Patogenia de la Tuberculosis*. Alfa, Buenos Aires, 1946.
- RILEY, R.L.; MILLS, C.; O'GRADY F.; SULTAN, L.V.; WITTSTADT, F.; SHIVPURI, D.N. - Infectiousness of air from a tuberculosis ward. *Am.Rev.Respir Dis*.86: 511-525. 1962.
- ROOK, G.A.W. - Role of activated macrophages in the immunopathology of tuberculosis. *British Medical Bulletin*.44(3): 611-623. 1988.
- ROSCOE, J.T. - *Fundamental Research Statistics for the Behavioral Sciences*. Holt, Rinehart and Winston. Second Edition - 1973
- SAI BABA, K.S.S.; MOUDGIL, K.D.; JAIN, R.C.; SRIVASTAVA, L.M. - Complement activation in pulmonary tuberculosis. *Tubercle*.71: 103-107. 1990.
- SAMTER, M.; TALMAGE, D.W.; FRANK, M.M.; AUSTEN, K.F.; HENRY, N.C. - *Immunological Diseases* - Fourth edition. Little, Brown and Company, Boston Toronto, 1988.

- SCHULTZ, C.L. & COFFMAN, R.L. - Control of isotype switching by T cells and cytokines. *Current Opinion in Immunology*, 3: 350-354, 1991.
- SEIBERT, F.B. - The chemical composition of the active principle of tuberculosis. *Am.Rev.Tuberc.* 17: 390-401, 1928.
- SEIBERT, F.B. - The isolation of three different proteins and two polysaccharides from tuberculosis by alcohol fractionation: their chemical and biological properties. *Am.Rev.Tuberc.* 59: 86-101, 1949.
- SHOENFELD, Y. & ISEMBERG - Mycobacteria and autoimmunity. *Immunology Today*, 9(6): 178-182, 1988.
- SHURR, E.; MAIO, D.; RADZIOCH, P.; BUSCHMAN, E.; MORGAN, K.; GROS, P.; SKAMENE, E. - Genetic control of innate resistance to mycobacterial infections. *Immunoparasitology Today*, March 1991.
- SILVA, E.A.M.; OLIVEIRA, E.; MARTINS, M.C.; PALACI, M.; ICHIKAWA, T. - Mycobacterium tuberculosis: Estudos das resistências As principais drogas anti-tuberculosas - *Jornal de Pneumologia*, 12(5): 62, 1985.
- SNIDER, D.E.J.; GRACZYK, J.; BEK, E.; ROZOWSKI, J. - Supervised six-month treatment of newly diagnosed pulmonary tuberculosis using INH, RMP e PZA with or without streptomycin. *Am.Rev.Resp.Dis.* 130: 1091-1094, 1984.

- SPITNER, L.E. - Delayed hypersensitivity skin testing. In Manual of Clinical Immunology (Eds. N.R. Rose and H. Friedman) American Society for Microbiology. p.56. 1976.
- STEAD, M.W. & DUTT, A.K. - Chemotherapy for tuberculosis today. Am. Rev. Resp. Dis. 125(15): 94-101. 1982.
- STEINMAN, R.M.; YOUNG, J.W. - Signals arising from antigen - presenting cells. Current Opinion in Immunology, 3: 361-372. 1991.
- SULTAN, L.; NYKA, W.; MILLS, C.; O'GRADY F.; WELLS, W.; RILEY, R.L. - Tuberculosis disseminators. Am. Rev. Respir. Dis. 82: 358-363. 1960.
- TARANTINO, A.B. - Doenças Pulmonares. Guanabara Koogan. 1982.
- TERRITO, M.C. & CLINE, M.J. - Monocyte function in man. J. Immunol. 118: 1303-1309. 1976.
- TILNEY, L.G.; PORTNOY, D.A. - Actin filaments and the growth movement, and spread of the IC bacterial parasite *Listeria monocytogenes*. J. Cell Biol. 109: 1597-1608. 1989.
- TODD, J.C.; SANFORD, D. & DAVIDSOHN, I. - Clinical diagnosis and management by laboratory methods. Saunders. 1984.
- TOEWS, G.B.; VIAL, W.C.; DUNN, M.M.; GUZZETA, P.; NUNEZ, G.; STASTNY, P.; LIPSCOMB, M.F. - The accessory Cell function of human alveolar macrophages in specific T cell - proliferations. J. Immunol. 132: 181-186. 1984.

- VAN BORTH, R.; VAN-ZWET, T.L.; LEIJH, P.C.J. - Quantitative determinations of phagocytosis and intracellular killing by polymorphonuclear and mononuclear phagocytes. In Wen, D.M. (ed). Handbook of Experimental Immunology 3rd. ed. Oxford Black Well Scientific Publications. pag 32. 1978.
- VILELA, M.M.S. - Fagocitose em crianças com anemia falciforme. Tese de doutoramento apresentada ao Instituto de Biologia da UNICAMP, 1986.
- WERDELIN, O.; MOURITSEN; PETERSEN, B.L.; SETTE, A.; BOUS, S. - Facts on the association of antigens fragments with MHC molecules in Cell-Free systems, and speculation on the Cell biology of antigen processing. Immunological reviews 106. 1988.
- WHEELER, P.R.; RATLEDGE, C. - Metabolism en Mycobacterium leprae, M. tuberculosis and other pathogenic mycobacteria. British Medical Bulletin: 44(3): 547-555, 1988.
- W.H.O. - TUBERCULOSIS PREVENTION TRIAL: Trial of BCG vaccines in South India for tuberculosis prevention : first report Bull. Wld. Hlth Org. 57(5): 819-827, 1979.
- WINTROBE, M.M. - Clinical Hematology. Sixth Edition. Lea & Febiger. Philadelphia. 1967.
- WONG, C.T. & SAHA, N. - Changes in serum proteins (albumin, immunoglobulins and acute phase proteins) in pulmonary tuberculosis during therapy. Tubercle, 71: 193-197, 1990.

- YARKONI, E.; WANG, L.; BEKIERKUNST, A. - Stimulation of macrophages by core factor (and by heat-killed and living BCG). *Infect.Immun.* 6: 1-8, 1977.
- YEAGER, H.; LACY, J.Jr; SMITH, L.R., MASTRE, C.A. - Quantitative studies of mycobacterial populations in sputum and saliva. *Am.Rev.Respir Dis.* 95: 998-1004, 1967.
- YONG, A.J.; GRANGE, J.M.; TEE, R.D.; BECK, J.S.; BOTHOMLEY, G.H.; KEMENY, D.M.; KARDJITO, T. - Total and anti-mycobacterial IgE levels in serum from patients with tuberculosis and leprosy. *Tubercle*, 70: 273-279, 1989.
- YOUNG, G.P. - Relation between delayed hypersensitivity and immunity in tuberculosis. *American Review of Respiratory Disease*, 111: 109-118, 1975.
- YOUNG, G.P. - *Tuberculosis* . Saunders, 1979.
- YOUNG, D.B. - Structure of mycobacterial antigens. *British Medical Bulletin*, 44(3): 582-583, 1988.
- ZERLAUTH, G.; EIBL, M.M. & MANNHALTER, J.M. - Induction of anti-mycobacterial and anti-listerial activity of human monocytes requires different activation signal. *Clin. Exp. Immunol.* 85: 90-97, 1991.

VII - APENDICE

VII. Apêndice:

MATERIAL DE LABORATÓRIO :

- Anticorpo de ovelho tipo 7S anti-eritrócito de carneiro. Título aglutinante para hemácias de carneiro 1:160; (corresponde a 50% de hemólise 1:2000).
- Resina Eteilan-Merck.
- Etanol (Merck).
- Eosina Azul de Metileno seq. May-Grunwald-Merck.
- Etanol absoluto Merck.
- Gradiente de Ficoll-Hypaque com densidade 1075 (Ficoll 400 - Pharmacia Fine Chemical Uppsala - Suécia, Hypaque products Inc. new York, EUA).
- HBSS - solução salina balanceada de Hanks.
- Hematoxilina de Harris (Sigma Chemical Co.).
- Heparina - Liquemine 5.000 UI/ml - Roche.
- Membranas de filtro Millipore - SCPW (poros de 8 micra).
- Metanol (Merck).
- Siliconização de vidraria: Polidimetilsiloxane 360/350 CS fluido de silicone (Dow-corning do Brasil Ltda).
- Tubos de Leyghton (Vidrolabor).

- Xilol (Merck).
- Linosan - preparado a partir do fermento Fleischman.
- Câmaras de quimiotaxia tipo Boyden.
- Corante de Leischman.
- Endotoxina bacteriana (lipopolissacarideo B.E.coli 0,26B.6).
- Corante de Iurok.
- Antígenos para testes cutâneos de hipersensibilidade tardia, de procedencia da Fundação Ataulpho de Paiva:
 - a. PPD (derivado proteico purificado) - tubérculo proteínas purificadas de BCG apresentação de 5 U em 0.1ml.
 - b. Candina (clidomicina) - diluição 1:100.
 - c. Estreptoquinase / dornase 40/5 U em 0.5 ml.
 - d. Tricofitina - diluição 1:30.
 - e. Discos de feltro contendo DNCE em concentração de 50 e 2.000 microgramas.
- Hemácias de carneiro, conservadas em Alsever estéril, à 4°C.

DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DO COMPLEMENTO TOTAL (CH₅₀):

Foi empregada a técnica de KASAT e MAYER, (1961).

1. AMOSTRA DE SORO HUMANO:

Foram utilizados tubos Vacutainer simples para coleta individualizada de sangue, por punção asséptica de veia periférica. A seguir, os tubos foram transportados em banho de gelo até o laboratório, onde foram deixados em temperatura ambiente por 30 min para a retracção do coágulo. Foram centrifugados a 200 x g durante 10 min, a 2 graus centígrados, sendo coletado o soro sobrenadante, o qual foi imediatamente estocado a menos 70 graus centígrados, até o momento da titulação.

2. PREPARO DE SOLUÇÃO SALINA TAMPONADA COM BARBITAL:

A solução salina tamponada com barbitol (SSB) 0.15M pH 7,4 foi preparada no laboratório de Imunopatologia do departamento de Patologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, a partir de uma solução 5 x concentrada composta de:

ácido dietil parbitúrico -	1,4375 g
barbital sódico -	0,9375 g
MgCl ₂ -6 H ₂ O -	0,2541 g
CaCl ₂ -2 -	0,0415 g
NaCl -	21,35 g

água destilada - qsu - 300 ml.

Todos os sais empregados, foram fornecidos pela Sigma Chemical Co., Saint Louis, EUA.

3. PADRONIZAÇÃO DO SISTEMA HEMOLÍTICO:

Hemácias de carneiro conservadas em solução de Alsever estéril a 4 graus centígrados, foram lavadas 4 vezes em SSB 0.15M, pH 7.4 e resuspandidas para 4% em SSB. A suspensão de hemácias foi padronizada segundo uma densidade óptica de 0.5 ± 0.02 , em um comprimento de onda de 545nm de um espectrofotômetro Spectronic 21 Bausch Lomb, usando cubetas cilíndricas medindo 10 x 150 mm.

Hemolisina de coelho anti hemácia de carneiro CECOM, foi diluída em SSB para um título de 1/200 e a partir desta solução mãe, seriadamente de 1/2000 até 1/512000. A uma mistura de 0.3 ml de cada diluição de hemolisina com 0.3 ml de hemácias padronizadas, incubada durante 10 min em temperatura ambiente com agitação ocasional, foi acrescentado 0.3 ml de pool de soros humanos diluído a 1/100 com SSB. A esta última mistura, após incubação durante 30 min a 37 graus centígrados sob agitação, foi acrescentado 1.5 ml de SSB gelada, centrifugada a 200 x g durante 5 min, e lida a densidade óptica do sobrenadante em um comprimento de onda de 545 nm, contra um tubo branco, constituído de 0.3 ml de hemácias padronizadas e 2.7 ml de SSB e um tubo hemólise total, constituído de 0.3 ml de hemácias padronizadas e 2.7 ml de água destilada. A dose ótima de hemolisina, foi aquela capaz de dar o máximo de hemólise com a menor quantidade.

4. TITULAÇÃO DO COMPLEMENTO:

A titulação do complemento no soro dos pacientes foi feita em triplicata, misturando-se 0,6 ml do sistema hemolítico (hemácias pedunculadas ligadas à hemolisina em dose ótima), 0,45 ml de SSB gelada e 0,45 ml de cada diluição da amostra em SSB. O tubo branco, consistia de 0,9 ml de SSB e 0,5 ml do sistema hemolítico e o tubo hemólise total, de 0,9 ml de água destilada e 0,6 ml do sistema hemolítico. Os tubos foram incubados durante 30 min. a 37 graus centígrados, com agitação aos 15 min. A seguir, foram acrescentados 1,6 ml de SSB gelada em todos tubos, sendo submetidos a centrifugação a 200 x g por 5 min e leitura da densidade óptica, em um comprimento de onda de 546 nm, contra o branco, e calculados os valores proporcionais.

LAUDOS RADIOLOGICOS:

1. DF - Tecidos moles e estruturas ósseas íntegras. Área cardíaca normal. Diminuição volumétrica do pulmão direito (D), que se encontra substituído por áreas cavitárias, algumas com nível. Desvio do mediastino para D e elevação da base pulmonar. Hiperinsuflação do pulmão esquerdo (E) e numerosas calcificações pequenas e estrias difusas. Reação pleural no seio costofrênico D e ápice D.
2. J.B.H.S. - Tecidos moles e estruturas ósseas íntegras. Área cardíaca normal. Opacidades com áreas de confluência e cavitações de permeio no lobo superior E (LSE), que se encontra reduzido de volume. Retração cranial hilar E e pinçamento pleuro diafragmático. Nódulos calcificados e estrias no LSD. Paquipleuris apical E. Hiperinsuflação compensatória de lobo inferior E (LIE).
3. GF - Pectus excavatum. Área cardíaca normal. Infiltrado heterogêneo padrão retículo nodular difuso em ambos os pulmões, poupando bases. Imagens cavitárias (3) em topografia de LSE, uma com 5 cm de diâmetro, com paredes finas, e outras de 2 cm de diâmetro juntas. Nódulo de 2 cm de diâmetro em topografia de lingula. Hiperinsuflação de bases. Seios costofrênicos livres.
4. ASM - Tecidos moles e estruturas ósseas íntegras. Área cardíaca normal. Retração cranial de cisura e do hilo D. Focos de

consolidações confluentes difusas no parênquima pulmonar. Cavitações de paredes finas no LSE, LIP e LSD. Reação pleural apical D. Seios costofrênicos livres.

5. IC - Tecidos moles e estruturas ósseas integras. Área cardíaca normal. Hiperinsuflação pulmonar. Estrias e pequenos nódulos no LSE, com retração cranial hilar. Pequenos nódulos e estrias esparsos no restante do parênquima pulmonar. Reação pleural apical E.
6. HPS - Tecidos moles e estruturas ósseas integras. Área cardíaca normal. Focos de consolidação e áreas radioluscentes difusas no parênquima pulmonar. Presença de cavitação e diminuição volumétrica no LSE. Retração cranial do hilo D e pagumpleuris apical D. Pinçamento pleuro diafragmático à E.
7. MGM - Tecidos moles e estruturas ósseas integras. Área cardíaca normal. Perda volumétrica dos L.E. com retração cranial hilar, mais intensa à E. Opacidades heterogêneas difusas no parênquima pulmonar, com predomínio nos lobos superiores, e imagens cavitárias de diferentes diâmetros de permeio. Presença de nível líquido em cavitação do LSE. Pinçamento pleurodiafragmático à E. Reação pleural apical bilateral.
8. TMP - Tecidos moles e estruturas ósseas integras. Área cardíaca normal. Diminuição volumétrica do LSD, com retração cranial do hilo e desvio homolateral do mediastino. Elevação da base pulmonar D. Áreas cavitárias de paredes finas com nível em

11. Reação pleural apical à D e pinçamento pleuro diafragmático.

9. ALA - Tecidos moles e estruturas ósseas íntegras. Diminuição volumétrica do pulmão E com acentuado desvio homolateral do mediastino. Opacidade total do hemitórax E. com pequenas radioluscentes no LRE. Estrias e nódulos no LLD com imagens cavitárias. Herniação do pulmão D.
10. MBS - Sem documentação radiológica no prontuário HC-UNICAMP.
11. JCA - Tecidos moles e estruturas ósseas íntegras. Área cardíaca normal. Estrias e nódulos no LLD com diminuição volumétrica e retração cranial. Discretas estrias e nódulos grosseiros no LRE. Pinçamento pleurodiafragmático e reação pleural apical D.
12. LCP - Tecidos moles e estruturas ósseas íntegras. Área cardíaca normal. Diminuição volumétrica do LLD e opacidade com padrão alveolar no mesmo. Bolhas subpleurais apicais à D. Seios costofrênicos livres
13. PJA - Tecidos moles e estruturas ósseas íntegras. Área cardíaca normal. Hiperinsuflação pulmonar. Estrias e nódulos nos lobos superiores, alguns calcificados. Retração apical dos hilos pulmonares. Paquípleuris apical e na base E.
14. JGC - Tecidos moles e estruturas ósseas íntegras. Área cardíaca normal. Opacidades heterogêneas tipo retículo nodular em ápices pulmonares. Seios costofrênicos livres.

15. PZ - Tecidos moles e estruturas ósseas íntegras. Área cardíaca normal. Hiperinsuflação pulmonar acentuada. Nódulos calcificados de tamanhos diversos, difusos no parênquima pulmonar D e LSE, entremeados de estrias grosseiras. Retração cranial dos hilos pulmonares. Reação pleural na parede lateral D.
16. GRT - Tecidos moles e estruturas ósseas íntegras. Área cardíaca normal. Diminuição volumétrica do hemitórax E. Perda volumétrica do pulmão E, com opacidade homogênea em LSE; nódulos disseminados no pulmão D. Desvio do mediastino para E. Elevação da hemid cúpula diafragmática A E.
17. EKA - Tecidos moles e estruturas ósseas íntegras. Área cardíaca normal. Presença de opacidades heterogêneas em LSE com áreas de hiperlucência.
18. OL - Tecidos moles e estruturas ósseas íntegras. Área cardíaca normal. Pequenos nódulos calcificados em campos médios pulmonares.
19. MNT - Tecidos moles e estruturas ósseas íntegras. Área cardíaca normal. Focos de consolidação com confluência difusa no pulmão D. Imagens carvítárias de paredes finas no LSE. Discretas opacidades no LSE. Seios costofrênicos normais.
20. IM - Tecidos moles e estruturas ósseas íntegras. Área cardíaca normal. Focos de consolidação difusos no pulmão E, com áreas de confluência no campo médio e localizados no LSE.

TABELA 11 - Avaliação da Função Hepática em Pacientes (Grupo I).

Paciente	TGO até 120u/l	TGP até 220u/l	<i>gamma</i> -GT 5-78u/l	FA 10-190u/l	ALB/GLOBULINA 3.8-5.5g% / 0.8-1.6g%	
01-DI	1	6	82	389	2.06	1.52
02-LPH2	12	7	-	100		
03-47	10	8	-	-		
04-ACD	-	-	-	-		
05-DC	-	-	-	-		
06-HF3	-	-	-	-		
07-PGM	8	6	-	-		
08-TM2	8	7	-	38	4.4	1.2
09-ASA	8	8	-	-		
10-MB3	4	11	-	-		

TABELA 12 - Avaliação da Função Hepática em Controles (Grupo II).

Paciente	TGO até 120u/l	TGP até 220u/l	<i>gamma</i> -GT 5-78u/l	FA 10-190u/l	ALB/GLOBULINA 3.8-5.5g% / 0.8-1.6g%	
11-SCA	16	22	26	108		
12-LUP	25	17	0	77		
13-PCA	11	10	-	191		
14-CGC	18	37	-	-		
15-P5	-	-	-	-		
16-FRI	10	9	-	-		
17-BEA	44	47	13	165		
18-LS	37	38	-	-		
19-MNT	41	49	-	-		
20-13	10	13	15	119	2.77	1.72

TABELA 13 -Testes de Hipersensibilidade Tardia em Pacientes (Grupo I) e Controles (Grupo II). Medidas da Enduração em mm.

ANTIGENOS	GRUPO I			GRUPO II		
	(<5mm)	(5a 10mm)	(>10mm)	(<5mm)	(5a 10mm)	(>10mm)
PEL	0/10	2/10	3/10	2/10	0/10	2/10
PEL-CELTINA	0/10	1/10	2/10	5/10	2/10	2/10
CAVALIOTINA	0/10	0/10	1/10	1/10	4/10	4/10
PR-CT	0/8	1/8	0/8	4/4	0/4	0/4
D'Chloron.	0/9	1/9	3/9	0/9	1/9	3/9
INFUSAO	5/9	0/9	4/9	3/9	2/9	1/9

TABELA 14 - Exame Parasitológico de Fezes em Pacientes (Grupo I) e Controlados (Grupo II).

GRUPO I		GRUPO II	
12	negativo	11-SCA	-
13-HEM	-	12-UCF	-
14-SP	-	13-PCA	negativo
15-ASA	-	14-JGC	+ Ancylostoma
16-PI	-	15-PE	-
17-MH	-	16-GRI	-
18-MGS	-	17-EKA	negativo
19-UP	-	18-CL	-
20-ALA	-	19-MBT	-
21-PES	negativo	20-IM	+ Ancylostoma