

Recentes Progressos no Tratamento da Tuberculose

Affonso B. Tarantino

Membro Titular da Academia Nacional de Medicina

Com o advento de novas técnicas na área da biologia molecular já se produzem avanços significativos com relação a tuberculose. A história natural, bem como seu diagnóstico, tratamento, epidemiologia e profilaxia absorvem suas vantagens com novas e promissoras perspectivas. Sabe-se hoje, que com o antígeno 5, é possível fazer-se a titulação com imuno-absorvente, ligado a uma enzima, para medir a taxa de IgG no soro, que na tuberculose ativa está muito aumentada. A prova é feita pelo radioimunoensaio (ELISA). Esse antígeno foi o primeiro a ser empregado, para fins epidemiológicos no diagnóstico de doença ativa. Os testes são muito sensíveis, nas áreas geográficas, com alta prevalência de tuberculose, onde as formas avançadas da doença costumam ser mais frequentes. Nos países com baixa prevalência, esses testes, ao contrá-

rio, são menos sensíveis. Também são utilizados no diagnóstico dos derrames tuberculosos e nas outras formas extrapulmonares da doença, embora, nesses casos resultados positivos possam ocorrer com outras micobactérias. Todavia, seu emprego será sempre vantajoso por ser de fácil execução, baixo custo e do maior interesse no diagnóstico da tuberculose, particularmente nos países em desenvolvimento. Merece consideração o inconveniente desse antígeno não ser estável, o que muito dificulta sua estocagem e transporte.

Já foram isolados diversos fragmentos sequenciais do *M. tuberculosis* os quais se revelam, conforme o caso, com razoável ou mesmo alta especificidade diagnóstica. Também são empregados anticorpos monoclonais gerados por esses fragmentos que reagem com o soro dos pacientes contaminados. Alguns desses anticorpos, como o TB8, TB23, TB68, TB71 e TB72 mostram especificidade

muito variável. O anticorpo TB72, considerado o mais específico de todos, corresponde ao epítipo 38KDa do qual deriva o antígeno 5, acima mencionado.

Outro grande avanço no diagnóstico de todas as formas de tuberculose, inclusive a meningítica, está sendo obtida com a técnica da hibridação *in situ*. Materiais como escarro, lavado broncoalveolar, líquido pleural, líquido cefalorraquidiano, urina, sangue, pús e fragmentos de medula óssea, depois de adequadamente tratados, são submetidos aos processos de amplificação. Esses materiais, mesmo que contenham apenas alguns bacilos, tornam-se, praticamente, impossíveis de serem identificados com as técnicas tradicionais.

Convém lembrar que a baciloscopia só é possível se o material examinado contiver mais de 5 mil bacilos por cm³. Com a técnica acima referida, processa-se então a chamada reação em cadeia da polimerase,

que multiplica o DNA em milhões de cópias no prazo de duas horas, aproximadamente. O DNA contido na bactéria é seccionado em fragmentos, em pontos específicos, por enzimas conhecidas como enzimas de restrição. Existem no comércio, sondas oligonucleotídeas sintéticas, cujas seqüências de bases nucleotídeas correspondem ao fragmento separado pela enzima de restrição. Tal sonda, marcada com P^{32} ou digoxigenina, hibrida-se com o referido fragmento e o material é processado pela técnica que dispersa os fragmentos hibridados pela eletroforese em gel agarose. A identificação do fragmento é feita por auto-radiografia, no caso da sonda ter sido marcada com P^{32} ou com filme radiográfico, desde que a mesma já tenha sido marcada com digoxigenina, podendo haver de duas até vinte cópias diferentes.

Existe outra inserção sequencial, IS986, semelhante àquela, diferindo apenas por três bases nucleotídeas, também distribuídas em várias cópias.

A hibridização *in situ*, IS1610, fornece até 97,4% de diagnósticos seguros em materiais, inclusive aqueles negativos às pesquisas bacteriológicas convencionais. Diluições *in vitro* de emulsões de bacilos mostraram resultados com menos de 10 unidades bacilares. Os resultados têm a vantagem de serem fornecidos rapidamente pelo DNA de micobactérias mortas após quimioterapia.

Em resumo, se no material examinado o bacilo da tuberculose estiver presente, a sonda se hibridiza com segmento IS110, sendo esse fragmento identificado pela técnica Southern Blot, e o resultado positivo. Ao contrário, caso o material não contenha bacilo, a sonda não terá com que se hibridizar e nada será identificado, sendo o resultado negativo. Todavia, essa técnica, apesar de sofisticada e relativamente custosa, está se difundindo nos centros mais avançados da especialidade.

Outro procedimento na área diagnóstica, baseia-se no fato de que o ácido tuberculínico esteárico, exclusivamente nas micobactérias pode ser detectado, em espécimes clínicos pela cromatografia e espectrografia de massa. O método tem grande sensibilidade e um índice de positividade muito alto na detecção das micobactérias, o que o torna extremamente útil no diagnóstico da meningite tuberculosa.

Um outro método diagnóstico que vem despertando grande interesse, sobretudo em nosso meio, é o da dosagem da atividade da adenosina deaminase (ADA), amina envolvida no metabolismo das purinas, que na tuberculose ativa se encontra muito elevada. O procedimento, que é colorimétrico, baseia-se na transformação da adenosina em inosina, com liberação de amônia. Essa verificação é muito sensível para o diagnóstico das for-

mas de tuberculose extra-pulmonares, ocasião em que a pesquisa do bacilo é sempre difícil. Seu resultado é obtido rapidamente, em torno de duas horas, com uma especificidade que vai além de 90%. Sua utilidade é grande no diagnóstico dos derrames de natureza tuberculosa. Nesses casos, seus níveis no líquido pleural são muito altos, em torno de 450 UL, bem acima dos verificados no sangue, que oscila em torno de 350 UL. Todavia, convém lembrar, que podem ocorrer resultados falso-positivos em se tratando de empiema, mesotelioma, adenocarcinoma, linfomas e artrite reumatóide.

Os estudos continuam, novas perspectivas diagnósticas começam a surgir. Assim, recentemente foram clonados epitopos do complexo *M. tuberculosis* que se prestam às provas cutâneas. No momento, especula-se se estas provas ou os métodos sorológicos serão mais específicos e de aplicação mais prática na realização dos exames em massa. Há fundadas razões para que dentro em breve, dado ao alto grau de especificidade dessas provas, se permita distinguir os indivíduos sadios, embora infectados com *M. tuberculosis* ou com outras micobactérias, dos vacinados com BCG.

Esta publicação reproduz uma palestra realizada na Academia Nacional de Medicina com a colaboração de J. Rosemberg.