



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU
DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO
EM MEDICINA**

ANA SOFIA DA COSTA MATOS

TUBERCULOSE GANGLIONAR

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE PNEUMOLOGIA

TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:

Professor Doutor Carlos Manuel Silva Robalo Cordeiro

Dra. Sara Elisabete Marta De Oliveira De Silva Freitas

FEVEREIRO/2013

Índice

Resumo	4
Palavras-chave	4
Abstract.....	5
Key-words.....	5
Abreviaturas.....	6
Introdução	7
Epidemiologia.....	8
Patogénese.....	12
Clínica.....	16
Diagnóstico	19
Cultura.....	19
Biópsia excisional.....	21
Citologia aspirativa por agulha fina	22
Testes moleculares.....	24
Coloração Ziehl-Neelsen	28
Teste de sensibilidade à tuberculina e teste IGRA	29
Testes serológicos.....	31
Radiografia do tórax	32
Ecografia.....	33
Tomografia Computorizada.....	33
Outros exames imagiológicos.....	34
Broncoscopia.....	35

Reagentes de fase aguda.....	36
Hemograma	36
Tratamento	38
Reação paradoxal	44
Desenvolvimento/ Futuro.....	48
Caso clínico.....	51
Conclusão.....	54
Referências bibliográficas.....	58

Resumo

A tuberculose (TB) é uma das doenças infecciosas documentadas que há mais tempo acompanha o Homem. Mas, apesar de antiga, não faz parte do passado e revela-se ainda hoje um problema de saúde pública, constituindo uma importante causa de morte no mundo inteiro.

As características epidemiológicas da tuberculose ganglionar diferem da tuberculose pulmonar, assim como as manifestações clínicas são variáveis e, desta forma, o diagnóstico torna-se num desafio constante, dependendo em larga medida da suspeição clínica. O seu diagnóstico é muitas vezes difícil e tardio, o que aumenta a sua morbidade e mortalidade.

Nas últimas décadas a citologia aspirativa com agulha fina tem emergido como um método simples de diagnosticar a linfadenite tuberculosa, tendo vindo a substituir a biópsia de gânglios linfáticos. Também múltiplos métodos moleculares foram introduzidos, aumentando o número de opções diagnósticas.

Este artigo fornece uma revisão da literatura baseada na evidência científica acerca da tuberculose ganglionar: epidemiologia, patogénese e vias de infeção, manifestações clínicas, exames complementares de diagnóstico assim como o seu tratamento, sendo também descrito um caso clínico ilustrativo da patologia.

Palavras-chave

Tuberculose, tuberculose extrapulmonar, tuberculose ganglionar, *Mycobacterium tuberculosis*, caso clínico.

Abstract

Tuberculosis is an infectious disease documented long ago that accompanies the humankind. Though old, is not part of the past and is even today a public health problem and an important cause of death worldwide.

The epidemiological features of lymph node tuberculosis differ from pulmonary tuberculosis, as well as the clinical presentation is variable and thus the diagnosis becomes a constant challenge, depending largely on clinical suspicion. The diagnosis is often difficult and slow, which increases morbidity and mortality related to the disease.

In recent decades the fine needle aspiration cytology has emerged as a simple method of diagnosing tuberculous lymphadenitis, progressively replacing lymph nodes biopsy. Also multiple molecular methods were introduced, increasing the number of diagnostic options.

This article provides a literature review based on scientific evidence on lymph node tuberculosis: epidemiology, pathogenesis and routes of infection, clinical presentation, diagnostic procedures and treatment. A case report description is included to illustrate some essential features of the disease.

Key-words

Tuberculosis, extrapulmonary tuberculosis, lymph node tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, clinical case report.

Abreviaturas

ADN – ácido desoxirribonucleico

BCG – bacilo Calmette-Guérin

CAAF – citologia aspirativa com agulha fina

Coloração ZN – coloração Ziehl-Neelsen

E – etambutol

EBUS-TBNA – aspiração transbrônquica por agulha guiada por ecografia endobrônquica

EUS-FNA – aspiração por agulha fina guiada por ecografia endoscópica

FISH – hibridização *in situ* por fluorescência

IGRA – *interferon gamma release assay*

ISH – hibridização *in situ*

ITRN – inibidores da transcriptase reversa nucleosídeos

ITRNN – inibidor da transcriptase reversa não nucleosídeo

H – isoniazida

LAM – lipoarabinomannan

MNT – micobactérias não tuberculosas

PCR – reação em cadeia de polimerase

R – rifampicina

RFLP – polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição

RP – resposta paradoxal

S – estreptomicina

TC – tomografia computadorizada

TB – tuberculose

TB-EP – tuberculose extrapulmonar

TB-MDR – tuberculose multirresistente

TBNA – aspiração transbrônquica por agulha

TNF – fator de necrose tumoral

TST – teste de sensibilidade à tuberculina

VIH – vírus da imunodeficiência humana

WHO – World Health Organization

Z – pirazinamida

Introdução

Virtualmente todos os órgãos podem ser acometidos pelo *Mycobacterium tuberculosis*, contudo 70% dos casos da infecção tem localização pulmonar, tendo os restantes uma localização extrapulmonar, apesar destes dados variarem de país para país [1,2].

O termo tuberculose extrapulmonar (TB-EP) é usado para descrever o acometimento isolado de tuberculose numa região anatómica que não a pulmonar. Os locais mais comuns são o sistema linfático, o trato genitourinário, os ossos e articulações e o sistema nervoso central. Menos frequentemente são atingidos o peritoneu e outros órgãos intrabdominais [2]. Pode existir isoladamente ou associada a um foco pulmonar.

A apresentação mais comum da tuberculose extrapulmonar é a forma ganglionar, constituindo cerca de 35% dos casos, sendo que na maioria destes não existe envolvimento pulmonar ativo [2,3]. A apresentação extrapulmonar está particularmente associada à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH) (pode ser visto em mais de 50% dos doentes com esta infecção e tuberculose) [2]. A localização anatómica mais comum da linfadenite tuberculosa é a região cervical mas também estão descritos casos na região inguinal, axilar, mesentérica, mediastínica e intramamária. Na região cervical toma o nome de escrófula, um termo derivado do latim que significa “tumefação ganglionar”.

Epidemiologia

O surgimento da infecção VIH resultou numa mudança da epidemiologia da tuberculose e levou ao ressurgimento da sua forma extrapulmonar. Com início em 1980, a epidemia de infecção VIH levou a um aumento dos casos de tuberculose e à sua maior mortalidade, o que permaneceu durante a década de 90 até 2004, a partir de onde se observou uma diminuição da incidência da forma pulmonar [4].

Ao contrário do que sucedia em anos anteriores, nos quais se verificava um aumento gradual da prevalência da infecção, desde 2002 que se verifica uma diminuição do número total de casos de tuberculose. Em 2010 a incidência foi de 8,8 milhões de casos de tuberculose (equivalente a 128 casos por 100 000 pessoas) contra 9,4 milhões de novos casos registados em 2009. Tal como a incidência, a mortalidade assume também uma tendência decrescente: em 2009 verificaram-se 1,68 milhões de mortes contra 1,45 milhões em 2010 (destes 0,35 milhões em VIH-positivos) [4,5]. A prevalência estimada em 2010 foi de 12 milhões de infetados o que equivale a 178 por 100 000 habitantes [4].

De todos os países, a China alcançou a maior redução de prevalência e mortalidade, com uma diminuição de 80% da mortalidade entre 1990 e 2010 e queda anual de 3,5% da incidência de tuberculose [4].

Nos novos casos de tuberculose, cerca de 87% correspondem a um primeiro episódio, 4,6% correspondem a uma recorrência e os restantes correspondem a casos com história da terapêutica e mudança do esquema farmacológico [4].

A maioria dos casos de tuberculose em 2010 ocorreram na Ásia (59%) e África (26%), sendo que uma pequena porção dos casos sucederam na região mediterrânica Este (7%), Europa (5%) e continente Americano (3%). Os cinco países com maior incidência em 2010 foram a Índia (2-2,5 milhões), a China (0,9-1,2 milhões), a África do Sul (0,4-0,59 milhões), a Indonésia (0,37-0,54 milhões) e o Paquistão (0,33-0,48 milhões). A Índia

isoladamente contribui para 26% de todos os casos de tuberculose a nível mundial e associada à China é responsável por 38% dos casos notificados [4].

Estes valores constituem apenas estimativas, dado que os doentes podem não procurar cuidados médicos, ou se os procurarem podem manter-se sem diagnóstico ou, ainda, são diagnosticados mas não são reportados às autoridades competentes.

É uma doença principalmente associada à pobreza, com 95% dos casos e 98% das mortes ocorrendo em países em vias de desenvolvimento [6].

A tuberculose é a infeção oportunista mais frequente dos doentes VIH positivos e constitui a maior causa de morte nestes doentes, em países em desenvolvimento [7]. Por este motivo, está recomendada a pesquisa da infeção VIH em todos os doentes com suspeita ou confirmação de tuberculose, pois esta é muitas vezes o primeiro indício clínico que o doente está infetado pelo vírus da imunodeficiência humana [8]. Estes doentes têm risco aumentado para infeção primária, reativação de infeção latente e para um segundo episódio a partir de uma reinfeção exógena. Cerca de 25-44% dos doentes com tuberculose estão coinfectados com VIH, sendo que 82% destes ocorre em África [4,9].

Apesar dos objetivos conquistados, o diagnóstico e tratamento dos casos de tuberculose multirresistente (TB-MDR), definida por resistência a isoniazida e rifampicina, constitui ainda um desafio. A evolução real da TB-MDR é desconhecida mas as estimativas sugerem que o desenvolvimento de resistência em doentes com tuberculose mantém-se estável a nível mundial, o que se deve a uma estabilidade no continente americano, decréscimo na Ásia e na região do Pacífico mas com incidência crescente em África e na Europa. Estima-se que em 2010 existiam cerca de 650 000 casos de TB-MDR entre os 12 milhões de casos de tuberculose. A maior percentagem de novos casos de TB-MDR foi registada na Índia, China, Rússia e Bangladesh [4].

Enquanto a incidência de tuberculose pulmonar tem vindo a diminuir, o mesmo não acontece com a TB-EP: existe uma incidência crescente desde os meados da década de 80, quer em países desenvolvidos quer em países em desenvolvimento, sendo os países de maior prevalência a Índia, a África do Sul e a Etiópia. Este crescimento deveu-se em grande parte ao surgimento da infeção VIH [2,4]. Nos países em vias de desenvolvimento, onde a tuberculose tem uma alta incidência, 30-52% dos casos de linfadenopatias são devidas a TB-EP [10].

Na tuberculose ganglionar, os gânglios mais frequentemente envolvidos são os cervicais, constituindo a localização de 10-15% de todos os casos de tuberculose extrapulmonar. No entanto, outros locais podem ser envolvidos, tais como gânglios inguinais, mesentéricos, mediastínicos e intramamários [6]. Esta forma de tuberculose é mais frequentemente diagnosticada em crianças e adultos jovens mas, pode ser vista em qualquer grupo etário [10]. As crianças têm um elevado risco de desenvolver formas extrapulmonares devido à imaturidade do sistema imunitário, com maior probabilidade de desenvolvimento de formas graves da infeção. Em vários estudos, a TB-EP ocorre mais frequentemente em mulheres, contrariamente à tuberculose pulmonar mais prevalente em homens de idade mais avançada [2,3,6].

A TB-EP, incluindo a forma ganglionar, é mais comum em doentes imunodeprimidos, incluindo aqueles com infeção VIH. No entanto, diabetes mellitus, sem abrigo ou alcoolismo constituem fatores de risco para a tuberculose pulmonar mas não para a ganglionar [11].

Nos países não endémicos (<40 casos/100 000 habitantes) a maioria dos doentes são imigrantes de países endémicos, com padrão de reativação. Em estudos realizados, a maioria dos novos casos de tuberculose ou coinfeção tuberculose/VIH ocorreram em nativos de países com alta incidência das duas doenças. Por exemplo, em França a

incidência de tuberculose em nativos é 5/100 000 comparando com uma incidência de 160/100 000 nos nascidos em África [9].

Patogénese

As micobactérias que usualmente provocam doença no Homem são o *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis* e *M. africanum* [2]. Historicamente, a maioria dos casos de tuberculose cervical eram devidos ao *M. bovis*; contudo, a partir da difusão da pasteurização do leite e dos programas de controlo da tuberculose no gado, esta fonte de contaminação foi virtualmente eliminada nos países desenvolvidos.

A linfadenite pode também ser causada por micobactérias não tuberculosas (MNT) e estudos recentes indicam que a doença causada por estas bactérias tem uma incidência crescente, mesmo em países desenvolvidos. São causadoras de linfadenite sobretudo em crianças entre um e cinco anos de idade [12,13]. Nos países desenvolvidos, no presente, o *M. tuberculosis* é o causador mais frequente de linfadenite por micobactérias, em adultos [2,12]. Em crianças, os microrganismos que mais frequentemente causam linfadenite são as micobactérias não tuberculosas e não existe diferença de incidência em ambos os sexos [14]. As MNT que provadamente causam linfadenite são o *Mycobacterium scrofulaceum*, *M. kansasii* e *M. avium-intracellulare*, sendo este último microrganismo o agente mais frequentemente causador de linfadenite não tuberculosa [2]. Além destas micobactérias outros organismos são responsáveis por linfadenite crónica, como o *Toxoplasma*, a *Bartonella* e fungos. Causas não infecciosas incluem neoplasias, sarcoidose, doença de Castleman, reações a fármacos e hiperplasia reativa não específica.

Existem vários fatores que influenciam a transmissão da infeção: a intensidade e tempo de exposição assim como a resposta imunitária, que pode estar comprometida, particularmente devido à associação com a infeção VIH. A tuberculose ganglionar é mais frequente em mulheres com um *ratio* mulher/homem de 1,4:1 e a idade média em mulheres é inferior à do homem [11]. Não se conhece a causa desta distribuição por género; contudo, é possível a associação com fatores do hospedeiro, como ocupações ou práticas culturais

que favoreçam a exposição orofaríngea ao bacilo. Também é possível a existência de tropismo determinado geneticamente, influências hormonais, imunização ou diferente comportamento na procura de cuidados médicos. Nos países em desenvolvimento a mulher tem frequentemente um estado socioeconómico e nutricional baixo, o que poderá influenciar a eficácia da resposta imunitária.

A patogénese da tuberculose ganglionar não está completamente esclarecida e existe um debate acerca desta doença ser localizada ou disseminada [2].

A bactéria geralmente acede ao organismo humano através da via respiratória e sofre, após a entrada, disseminação hemática e linfática [14]. A infeção primária ocorre na exposição ao agente e o bacilo aloja-se no alvéolo pulmonar, multiplicando-se. Os vasos linfáticos drenam os bacilos fagocitados pelos macrófagos para gânglios hilares e mediastínicos, e depois para as cadeias subsequentes. A linfadenite pode ocorrer durante a infeção primária, o que é mais frequente em crianças e imunocomprometidos, ou como reativação de infeção latente. A infeção primária pelo *M. tuberculosis* geralmente ocorre na infância precoce e na maioria dos indivíduos mantém-se no estado latente. Apenas em 10% dos portadores a tuberculose torna-se clinicamente ativa, sendo que alguns bacilos mantêm-se latentes para o resto da vida [15]. Nos países de baixa ou moderada endemicidade, a globalidade dos casos resulta de reativação de infeção latente, permitindo que a tuberculose ocorrida em imigrantes se deva à contaminação no país de origem [9].

Outros autores consideram que a via predominante de propagação do bacilo para os gânglios cervicais ocorre a partir do parênquima pulmonar, isto é, através de linfáticos do pulmão direito e do lobo inferior do pulmão esquerdo para os gânglios supraclaviculares direitos e assim para a cadeia cervical inferior [2]. No entanto, outras vias alternativas estão também propostas como a disseminação linfática, tendo como porta de entrada o anel

linfático de Waldeyer (tonsilas tubárias, faríngeas, palatinas e lingual), estando este tecido linfoide muito desenvolvido na criança [2].

Nos casos de linfadenite tuberculosa abdominal, a via de contágio mais comum é a ingestão de material contaminado, sendo também possível, como ocorre noutras localizações, a disseminação hematogénea a partir de uma fonte de infeção, como o pulmão. Uma terceira via proposta é a infeção por contiguidade de órgãos adjacentes [16].

As MNT são geralmente transmitidas aos humanos através de fontes do ambiente pois são ubiqüitárias do solo e água e, geralmente, a infeção ocorre através da mucosa orofaríngea, glândulas salivares, tonsilas ou conjuntiva. Esta forma de transmissão é particularmente importante nas crianças pois os dentes decíduos podem facilitar o contato das MNT com os tecidos [14].

Após a sua chegada ao gânglio linfático, o bacilo aloja-se no sinus onde toma a forma de tuberculoma. As citocinas e linfocinas libertadas pelos macrófagos destruídos resultam na acumulação de monócitos e macrófagos. Após duas a três semanas, os macrófagos adquirem a capacidade de destruir os bacilos fagocitados e simultaneamente alguns macrófagos começam a sofrer morte, quer provocada pelos bacilos de forma direta ou pelos seus produtos. Existe ainda uma reação de hipersensibilidade do tipo tardio a antígenos bacilares que provoca lesão tecidual. Nesta etapa o tuberculoma forma uma zona central de necrose caseosa (semelhante a queijo mole) rodeada por tecido de granulação contendo macrófagos viáveis e a sua forma de células epitelioides, linfócitos e outras células. Embora o *M. tuberculosis* possa sobreviver, o seu crescimento é inibido dentro do ambiente necrótico com baixa percentagem de oxigénio e baixo pH. Neste estadio algumas lesões podem cicatrizar por fibrose, com calcificação subsequente, enquanto outras lesões podem sofrer inflamação e necrose. Inicialmente os gânglios são discretos, mas pode formar-se uma reação inflamatória periférica, responsável pela

formação de pús caseoso que, se perfurar a fáscia profunda, pode apresentar-se como um abscesso ou pode ocorrer drenagem através de uma fístula. O processo de cura é acompanhado de calcificação e cicatriz.

De salientar que as características genéticas do *M. tuberculosis* são importantes fatores na determinação do risco de desenvolvimento de tuberculose ativa, no tipo de TB assim como na sua disseminação ou localização anatômica [9].

Clínica

Além da patogênese bacteriana, as manifestações clínicas dependem de diversos fatores, tais como a idade, o gênero, a nutrição, a constituição genética, história familiar de contágio e competência imunitária.

A tuberculose ganglionar é mais comum em mulheres e em adultos jovens, ao contrário da forma pulmonar mais comum em homens de idade mais avançada. Caracteristicamente possui um pico de incidência entre os 20 e os 40 anos [2,6,10,17].

A sua apresentação depende da localização da linfadenopatia e do estado imunológico do doente. Mais frequentemente cursa com tumefação lentamente progressiva, consistência dura e indolor de um grupo de gânglios, geralmente as cadeias cervicais posteriores, com uma frequência de 45-73%, seguidos dos gânglios supraclaviculares, com frequência de 12-30%. A região axilar tem uma frequência de 24% e a inguinal de 17% [9,10,11]. Existe envolvimento de uma região anatômica em 69% dos casos, de duas regiões em 20% e de três ou mais regiões em cerca de 10% dos doentes [9]. Em 85% dos casos existe um envolvimento unilateral de 1 a 3 gânglios [11,17]. Num estudo realizado na Índia, apenas 26% dos doentes apresentavam adenomegalias bilaterais [6]. A média do diâmetro do gânglio é 3 cm mas pode atingir os 8-10 cm de diâmetro.

O envolvimento ganglionar abdominal é raro mas, se ocorrer, os gânglios mais frequentemente envolvidos são gânglios linfáticos mesentéricos, do pequeno omento e a região periaórtica superior. No geral, o diâmetro das adenomegalias nesta localização é inferior a 4cm [16].

No estágio inicial da doença estas adenomegalias são discretas, indolores, de consistência dura, sem flutuação. No entanto, com a evolução da doença podem apresentar sinais inflamatórios, necrose ou drenagem de conteúdo caseoso através de um trajeto fistuloso, classicamente fino, azulado, com bordos mal definidos e drenagem escassa de

material caseoso (presente em cerca de 4-11% dos doentes aquando da apresentação) [6,11,14]. Desta forma, a doença é classificada em 5 graus: no grau 1 existe um aumento do diâmetro do gânglio, com consistência firme, sem flutuação e hiperplasia reativa. O grau 2 caracteriza-se pela presença de sinais inflamatórios e no grau 3 ocorre o amolecimento central do tecido e formação de um abscesso. No grau 4 há a formação de vários abscessos que tomam a forma de um colar e o grau 5 é caracterizado pelo aparecimento de uma fístula. Assim, os achados ao exame físico estão dependentes do grau da doença.

A infeção pode não ser reconhecida por um longo período de tempo devido à ausência frequente de sintomas constitucionais. Em cerca de 52,2-56% dos doentes existem sintomas sistémicos como febre, perda de peso, anorexia, fadiga e sudorese noturna. Estes sintomas são mais frequentes no homem, sendo a febre o mais comum independentemente do género, existindo uma associação dos sintomas constitucionais com granulomas necróticos [17,18].

Dependendo da localização, outros sinais e sintomas podem ser evidenciados: dor abdominal, massa palpável, icterícia por trombose venosa portal e obstrução intestinal no caso de envolvimento de gânglios abdominais. Disfagia, tosse ou outros sintomas causados por compressão de adenomegalias intratorácicas são também possíveis, assim como fístulas esófago-mediastínica e traqueo-esofágica [13,14].

A linfadenite causada por micobactérias não tuberculosas envolve mais frequentemente os gânglios cervicais superiores, as glândulas salivares e gânglios que as rodeiam. O crescimento dos gânglios pode ocorrer rapidamente, podendo estar associado a fístula. No caso de MNT os sintomas sistémicos não são proeminentes [2].

A duração dos sintomas aquando da procura de cuidados médicos é de 1 a 2 meses, variando de 3 semanas a 8 meses [17].

A coinfeção tuberculose/VIH aumenta o risco de progressão rápida de uma tuberculose primária, assim como o risco de reativação de infecção latente. Um atraso no diagnóstico e no início da terapêutica em mais de 3 semanas após a apresentação estão associados a 45-85% das mortes nestes doentes [19]. O local mais comum de TB-EP nestes doentes é o sistema linfático; contudo, pode haver envolvimento neurológico, pleural, pericárdico, abdominal, sendo possível o envolvimento de qualquer região anatômica. É reconhecido que a frequência e a gravidade das infecções oportunistas dependem do grau de imunossupressão: o envolvimento multifocal é observado em 39% dos doentes VIH-negativos mas em 90% dos VIH-positivos [14]. Nos doentes VIH positivos, adenomegalias bilaterais simétricas com um diâmetro inferior a 3cm são registadas em cerca de 29% dos doentes, contrariamente aos doentes VIH negativos em que apenas 11% dos casos registam adenopatias bilaterais e o diâmetro é tipicamente superior a 3cm. Existe envolvimento pulmonar em 18-42% dos pacientes, sendo mais frequente nos doentes com a coinfeção (90%) comparativamente aos doentes VIH negativos (28%). A mesma distribuição é encontrada quanto aos sintomas sistémicos, síndrome inflamatória de reconstituição, assim como a taxa e a duração das hospitalizações onde estes são mais frequentemente registados em doentes VIH positivos [2,9,11].

O risco de envolvimento sistémico é tanto maior quanto maior for a imunossupressão, tanto que, a média da contagem de linfócitos CD4 é mais baixa nos doentes com linfadenite generalizada do que naqueles com doença localizada [9].

De notar que a apresentação clínica depende da origem geográfica: numa série de doentes VIH negativos na Califórnia, apenas 19% dos doentes desenvolveram febre e 16% sofreram perda de peso. Pelo contrário, estatísticas realizadas no Qatar e Índia revelaram que a frequência de febre e perda de peso rondava os 40-60% [11].

Diagnóstico

O diagnóstico de tuberculose ganglionar é um desafio pois mimetiza outros processos patológicos e os achados clínicos e laboratoriais são inconsistentes, sendo necessário um alto nível de suspeição para a sua concretização. Nos últimos anos, tem-se registado um desenvolvimento e uma melhoria das técnicas para decisão diagnóstica.

O diagnóstico definitivo é realizado por cultura ou reação em cadeia de polimerase (PCR) demonstrando o *M. tuberculosis* num gânglio linfático alterado. No entanto, outras técnicas podem auxiliar a sua confirmação, como a presença de bacilos ácido álcool resistentes ou de uma inflamação granulomatosa.

Cultura

A cultura mantém-se o *gold standard* para o diagnóstico. Todavia, o crescimento lento das micobactérias constitui a sua maior desvantagem, podendo o resultado apenas estar disponível em 2-4 semanas. Além da demora dos resultados, necessita de procedimentos de segurança especializados e um laboratório com biossegurança nível 3 [1,11,20]. Apesar destas desvantagens, constituía, até ao desenvolvimento das técnicas moleculares, o único meio de se realizar o teste de sensibilidade aos antimicrobianos.

O meio de Lowenstein-Jensen é o meio tradicional sólido, sendo sensível mas lento, com crescimento visível apenas após 6-8 semanas de incubação. Os métodos convencionais de identificação baseiam-se em testes químicos e por vezes a identificação precisa não é possível. A técnica MALDI-TOF MS (*matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry*) permite a identificação rápida da espécie em crescimento em meio sólido ou líquido, através do perfil obtido a partir de culturas isoladas [21].

É recomendado pela WHO a utilização do meio sólido em conjunto com o meio líquido para aumentar a taxa de isolamento do bacilo em amostras clínicas [22].

Os sistemas automáticos com meios líquidos detetam o crescimento bacteriano em 1-2 semanas, através da produção de dióxido de carbono ou consumo de oxigénio. Estas alterações gasosas são medidas por sensores radiométricos (BATEC 460; *Becton Dickinson Diagnostic Instruments Systems*), sensores fluorescentes (BACTEC *Mycobacteria Growth Indicator* 960; *Becton Dickinson Diagnostic Instruments Systems*) sensores colorimétricos (Sistema MB/BacT; *Organon Teknika*), sensores de pressão (sistema de cultura ESP II; *Difco Laboratories*) ou reagentes redox, como o azul de Alamar [23].

O sistema BACTEC MGIT 960 apresenta a maior sensibilidade (86,5%) na deteção do complexo *M. tuberculosis* quando comparado com o sistema MB/BacT ALERT 3D e meio de Lowenstein-Jensen. Contudo na deteção das MNT, o meio de Lowenstein-Jensen mostrou ser o mais sensível (76,2%). A sensibilidade (95,5%) e especificidade (99,6%) máximas foram obtidas aplicando o sistema BACTEC MGUT 960 no meio de Lowenstein-Jensen [23].

Em outro estudo, a cultura (neste caso realizada cultura em meio de Lowenstein-Jensen) de amostras colhidas de gânglios linfáticos mostrou uma sensibilidade superior (88,23%) à coloração de Ziehl-Neelsen, citologia aspirativa por agulha fina e PCR [10].

Além de se oferecer melhor sensibilidade que o exame microscópico, a cultura permite a identificação da espécie, o estudo da sensibilidade aos antibióticos, a monitorização do tratamento e a recuperação do doente baseado em culturas negativas.

Os falsos negativos da cultura podem ser atribuídos a bacilos não viáveis devido à colheita ou acondicionamento da amostra, a substâncias bacteriostáticas, a baixa

quantidade de bacilos, a tratamento agressivo das amostras ou devido a amostra não representativa.

O material para cultura pode ser obtido através de biópsia excisional ou aspiração por agulha fina. Em estudos comparativos, o resultado da cultura é positiva em 67-80% dos casos quando o material é colhido por biópsia excisional contra 17-30% das culturas positivas usando a aspiração por agulha fina [6,11].

A cultura de urina, expetoração ou fezes é um importante auxiliar no diagnóstico, já que 20% dos doentes com aparente doença localizada ao pescoço apresentavam tuberculose ativa noutra local [9].

Biópsia excisional

A biópsia excisional é a abordagem mais invasiva; contudo, assegura uma quantidade adequada de tecido que permite o diagnóstico de tuberculose em quase todos os casos em que esta é a causa de linfadenopatia. Também aumenta a probabilidade de se obter uma cultura positiva e teste de sensibilidade aos antibióticos e reduz o risco de se atrasar ou negligenciar um diagnóstico definitivo como o linfoma [20]. A identificação de inflamação granulomatosa, necrose caseosa associadas a células de Langhans e células gigantes de tipo corpo estranho encontram-se a favor do diagnóstico de linfadenite tuberculosa [11].

Este método está raramente associado a complicações no entanto, pode ocorrer infeção da ferida cirúrgica, formação de uma fístula e cicatriz. Quando existem múltiplos gânglios é preferível realizar uma biópsia incisional por menor risco de formação de fístula [11].

No momento, esta técnica tem vindo a ser substituída pela citologia aspirativa de agulha fina (CAAF) e o estudo histopatológico está reservado para os doentes que apesar

de um resultado negativo na CAAF, cultura ou coloração ZN permanecem com elevada suspeição clínica [2].

Citologia aspirativa por agulha fina

Esta técnica é mais segura e económica, menos invasiva, mais rápida e mais fácil de realizar que a biópsia, especialmente em zonas com recursos limitados, como é o caso dos países em desenvolvimento. É um método com excelente sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de linfadenite tuberculosa, sendo recomendado como teste diagnóstico inicial nos casos suspeitos [2].

Os resultados da citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) mostram que as adenomegalias se devem a adenite reativa em 51%, linfadenite tuberculosa em 32%, metástase em 9% e linfoma em 7% dos casos [24].

Num caso de tuberculose ganglionar podem ser vistos cinco tipos diferentes de achados citológicos em esfregaço: padrão reativo predominante com algumas células epitelioides, numerosas células epitelioides com células gigantes multinucleadas, sendo que neste caso o diagnóstico é realizado em alguma facilidade. Pode também existir material composto maioritariamente por tecido necrótico com poucas células epitelioides ou com alguns linfócitos e histiócitos sem células epitelioides ou ainda material necrótico sem células viáveis. Em 46-93% dos casos são encontrados granulomas epitelioides com necrose caseosa [6,9,10,17].

Quando na citologia são encontrados granulomas de células epitelioides e necrose caseosa, com ou sem células gigantes multinucleadas, esta torna-se altamente sugestiva se associada a contexto clínico, teste de sensibilidade à tuberculina ou teste IGRA positivos. Se associadamente aos achados anteriores existe resposta ao tratamento e o doente se

encontra em área de alta endemicidade, o diagnóstico torna-se ainda mais seguro; contudo, a confirmação bacteriológica é essencial [2,10].

O material necrótico ou granulomas necróticos são mais frequentemente encontrados em homens que mulheres e estão associados a maior frequência de sintomas sistêmicos. A causa desta associação entre sintomas e necrose pode ser baseada na reação de hipersensibilidade retardada. Esta reação manifesta-se morfológicamente por necrose no centro do granuloma e produção de citocinas (fator de necrose tumoral e interferão- γ) e interleucinas (IL-1). Estes fatores poderão ser os responsáveis pelos sintomas constitucionais [17].

As características típicas são pouco frequentes em doentes VIH positivos em estadios avançados, dado que as células T são necessárias para a formação do granuloma [2]. Nestes doentes frequentemente não são encontrados granulomas com necrose caseosa; no entanto, podem ter resultado positivo na coloração ZN mais frequentemente que doentes VIH negativos [9]. Um estudo com CAAF de adenomegalias superficiais nestes doentes demonstrou que aqueles com hiperplasia têm uma contagem de linfócitos CD4 superior àqueles diagnosticados com infeção tuberculosa ou fúngica, sendo a infeção fúngica a que está relacionado com menos níveis de linfócitos CD4 [19].

Nos países em vias de desenvolvimento, a maioria dos diagnósticos de tuberculose ganglionar tem como base a determinação de granulomas sem necrose caseosa ou necrose caseosa sem granulomas na CAAF. Contudo, a presença de granulomas sem necrose não é suficiente para o diagnóstico e outros testes devem ser realizados. Isto porque a inflamação granulomatosa não é específica de linfadenite tuberculosa, existindo outras patologias que cursam com desenvolvimento ganglionar de granulomas, como o linfoma ou a sarcoidose [11,20].

A presença de microabcessos, granulomas mal definidos e um pequeno número de células gigantes é mais indicativo de adenite causada por micobactérias não tuberculosas do que de linfadenite tuberculosa [2].

O estudo citológico pode ser complementado pela coloração de Ziehl-Neelsen e cultura, devendo a PCR ser reservada para casos duvidosos [10].

Num estudo comparativo, a biópsia mostrou maior sensibilidade que a CAAF, provavelmente devido a uma amostra de maiores dimensões. No entanto, na prática clínica é preferível a CAAF por ser menos invasiva e mais económica [14].

A CAAF possui sensibilidade de 82% e especificidade de 97% na avaliação de linfadenopatias cervicais [24]; contudo, não é capaz de fazer a distinção entre micobactérias tuberculosas e não tuberculosas [25].

Testes moleculares

Estas técnicas têm a capacidade de fornecer um resultado rápido, estando os resultados disponíveis em 24-48 horas, sendo a caracterização do genoma do *M. tuberculosis* importante no controlo da tuberculose pois permite a monitorização da diversidade das estirpes e das resistências.

A caracterização da bactéria num nível de subespécie permite estudar se a infeção é endógena ou exógena, avaliar as rotas de transmissão, definir se a infeção é causada por uma única estirpe ou por várias e se a recorrência da doença é atribuída a falência da terapêutica, sendo causada pela mesma estirpe, ou se é devida a uma nova infeção.

Reação em cadeia de polimerase (PCR)

A PCR deteta fragmentos de ADN nos doentes suspeitos e amplifica estas sequências, sendo um método promissor pois permite a identificação e a avaliação do

genótipo do *M. tuberculosis* e, desta forma, possibilita o estudo da resistência aos antimicrobianos [26,27]. O fragmento mais frequentemente utilizado como alvo é o IS6110 dado existirem múltiplas cópias desta sequência ao longo do genoma da bactéria e o seu número e distribuição variarem ao longo do cromossoma de estirpe para estirpe [1,2,28].

O fragmento IS6110 é isolado mais frequentemente através da técnica de polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (RFLP), com alta capacidade discriminativa; contudo, necessita de uma grande quantidade de ADN e subsequentemente de maior tempo de cultura [28].

O *spoligotyping* é um método baseado na amplificação por PCR de um *locus* de repetição altamente polimórfico do *M. tuberculosis*. Tem a vantagem de ser mais rápido em relação à técnica RFLP pois esta é restrita à cultura sendo necessário cerca de 20 a 40 dias de crescimento para existirem bactérias suficientes, enquanto os resultados do *spoligotyping* podem ser obtidos a partir de culturas com apenas 1 dia. Apresenta uma sensibilidade de 98% e uma especificidade de 96% [27]. No entanto, a sua baixa capacidade discriminativa faz com que apenas seja útil em estudos epidemiológicos, mantendo-se o RFLP a técnica de referência para a caracterização do *M. tuberculosis* [28].

A aplicação da PCR pode fazer-se num pequeno volume de amostra e teoricamente são apenas necessários dois organismos para a amplificação do ADN; no entanto, a *performance* do teste é maior quando realizada em amostras de volume superior a 20 uL [11]. Em alguns estudos, existem casos com cultura negativa e PCR positiva, o que pode dever-se à presença de bacilos inviáveis [25]. Assim, este procedimento tem a capacidade de detetar o material genético mesmo em bactérias mortas, aumentando a segurança do resultado do procedimento.

Os falsos negativos devem-se a uma distribuição não homogénea, mutação da sequência alvo ou à presença de inibidores como a heparina, a hemoglobina ou o fenol. Os

falsos negativos da PCR usando a CAAF podem dever-se a pouca quantidade de bactérias colhidas, principalmente na fase inicial do crescimento ganglionar [10].

Uma revisão sistemática revelou que a PCR tem resultados altamente variáveis e inconsistentes na detecção de linfadenite tuberculosa, com sensibilidades a variar desde os 2 aos 100% e especificidades dos 28 aos 100% [11]. Contudo, é considerado o melhor método para identificar os diferentes membros do complexo *M. tuberculosis* baseado na presença ou ausência de vinte regiões genômicas [29].

Trata-se de um procedimento dispendioso que necessita de técnicos especializados para a sua realização, não sendo utilizada na maioria dos casos, devendo ser reservada para as situações problemáticas onde a suspeita clínica é elevada mas a cultura e a coloração de ZN se mantêm negativas. Não é necessária a sua utilização por rotina em situações em que a cultura em meio de Lowenstein-Jensen é positiva [30].

Hibridização *in situ*

A hibridização *in situ* (ISH) traz inúmeras vantagens. Além de alta sensibilidade e especificidade, permite a visualização direta da distribuição das bactérias nos tecidos infetados, fazendo-se desta forma uma discriminação inequívoca entre infecção verdadeira e contaminação. Também não existe o risco de falso negativo devido à presença de inibidores da amplificação como no caso da PCR. A técnica é melhorada com o uso de fluorescência (FISH) quer em sondas de ADN quer de ARN [1]. No entanto, a utilização de sondas de oligonucleótidos convencionais possui problemas de penetração na parede celular devido à presença de ácidos micólicos. Por este motivo, em alguns estudos têm-se usado ácidos nucleicos péptidos. Estes são hidrofóbicos e possuem menores dimensões, permitindo uma melhor passagem na parede e membrana celulares [31].

A positividade do procedimento é dada pela emissão de sinais fluorescentes. A presença de um sinal de baixa intensidade ou ausência de sinal caracterizam um resultado negativo. Podem ser encontrados agregados de bacilos livres ou em redor de lesões granulomatosas, assim como bacilos intracelulares.

Possui resultados semelhantes à PCR mas com a vantagem de detetar menos bacilos que os métodos de PCR atuais e fornecer informação morfológica do tecido e da expressão genética em granulomas, o que pode estar relacionado com a sua patogénese [1]. Além disso, não é necessário para a realização da FISH um laboratório com nível 3 de biossegurança, o que ocorre na cultura.

Os falsos negativos podem ser o resultado de baixa quantidade de bactérias ou de uma distribuição heterogénea no tecido.

Os métodos moleculares que têm como alvo a sequência IS6110 permitem a distinção entre micobactérias tuberculosas e não tuberculosas [1]. Atualmente, através do uso de sondas de ácidos nucleicos péptidos específicas é possível diferenciar o *M. tuberculosis*, o *M. leprae* e o *M. avium* [31].

Devido às vantagens em relação à PCR, à rapidez do resultado (2,5 horas) e ao baixo custo, a hibridização *in situ* pode vir a constituir uma alternativa aos métodos baseados na amplificação de material genético.

Xpert MTB/RIF

Este método consiste no processamento da amostra através de PCR em tempo real, numa plataforma automatizada, tendo a capacidade de detetar o *M. tuberculosis* e as mutações que conferem resistência à rifampicina em menos de 2 horas. A sequência genética *rpoB* é amplificada e, para avaliar a resistência à rifampicina, esta sequência é sondada e marcada com um sinal luminoso. A mutação do codão 531 do gene *rpoB* é a

mutação mais frequentemente associada a resistência à rifampicina. Contudo, existem outros locais cuja alteração provoca uma possível resistência: rpoB533 e rpoB526 (rifampicina), rrs513 (estreptomicina), rpsL43 (estreptomicina), embB306 (etambutol) e katG315 (isoniazida) [32].

Pode ser usado em amostras colhidas através de CAAF, urina ou fezes; no entanto, a sensibilidade em amostras de fezes é a mais baixa (13%) [33].

No diagnóstico de tuberculose extrapulmonar apresenta uma sensibilidade de 72,5-77,3% e especificidade de 98,2% e no diagnóstico de resistência à rifampicina apresenta uma sensibilidade de 95,1% e especificidade de 98,4%. Quando são usadas três amostras, a sensibilidade do método no diagnóstico da infecção aumenta para 90,2% [4,22,33].

Enquanto a infecção VIH diminui substancialmente a sensibilidade da microscopia, esta não afeta significativamente a performance do Xpert MTB/RIF [22].

Os falsos positivos podem dever-se a contaminação; no entanto, devido a uma reação em câmara fechada há uma diminuição deste risco.

Este teste tem a capacidade de revolucionar o diagnóstico de tuberculose e de tuberculose multirresistente já que ultrapassa inúmeras barreiras no estabelecimento do diagnóstico em países em desenvolvimento, tais como recursos humanos e laboratoriais.

Coloração de Ziehl-Neelsen

Esta técnica tem como objetivo a identificação de bacilos ácido álcool resistentes e a sua positividade indica uma etiologia micobacteriana e tem uma especificidade excelente para *M. tuberculosis* no adulto, embora com baixa sensibilidade [1,11].

É um procedimento rápido, económico e fácil de realizar, sendo usado tanto como método diagnóstico como para monitorização da terapêutica. A sua sensibilidade depende da fonte da amostra e varia de 20-78%, tendo uma especificidade de 92-100%. A

centrifugação e o uso de fluorocromos com microscopia ultravioleta aumentam marcadamente a sensibilidade [2,10,25].

A sua baixa sensibilidade pode estar relacionada com a qualidade do esfregaço e a baixa quantidade de bacilos presentes nos gânglios linfáticos (em muitos casos as linfadenopatias são paucibacilares) ou obtidos através da CAAF. Tal como acontece nos métodos moleculares, a coloração de ZN também é positiva em culturas negativas, o que pode estar relacionado com a presença de bacilos inviáveis para crescimento em cultura [1,25].

Esta técnica não permite a distinção entre os diferentes tipos de micobactérias, pois todos são ácido álcool resistentes. [1] Num estudo comparativo de cultura, PCR, coloração Ziehl-Neelsen (ZN) e citologia, a última obteve a maior sensibilidade (81%) enquanto a coloração ZN obteve a sensibilidade mais baixa (22%-76,4%). A maior especificidade é dada pela coloração ZN (92,4%) e a menor pela citologia (50%). Na generalidade, a taxa de deteção da citologia foi 59,8%, da cultura foi 38,8%, da PCR foi 11,8% e da coloração ZN foi de 11,8% [25]. No entanto, noutros estudos a PCR demonstrou um aumento de sensibilidade (61%-78%) quando comparada com métodos microbiológicos [25].

A positividade de todos os métodos é máxima quando existe necrose e granulomas no gânglio linfático [10].

Teste de sensibilidade à tuberculina e Teste IGRA

O teste de sensibilidade à tuberculina (TST) é usado para demonstrar a reação de hipersensibilidade retardada contra antígenos do *M. tuberculosis*. Considera-se um resultado positivo quando a induração é superior a 10mm. A induração com um diâmetro compreendido entre 5 e 9mm pode dever-se a vacinação prévia, infeção por *M.*

tuberculosis ou MNT. Uma induração inferior a 5mm é considerada negativa e significa ausência de sensibilização à tuberculina [2].

O TST é positivo em 75-90% dos doentes VIH negativos com linfadenite tuberculosa; no entanto, isolado não é suficiente para fazer o diagnóstico [2,11,14]. Nos doentes VIH positivos, muitos resultados serão negativos apesar da infeção, devido à anergia que estes doentes possuem [22].

Esta reacção pode estar falsamente positiva por contato prévio com micobactérias não tuberculosas ou devido à vacinação.

Existem dois testes de deteção do interferão- γ (IGRA): *QuantiFERON-TB Gold* (Cellestis, USA) e o *T SPOT-TB* (Oxford Immunotec, USA). Ambos quantificam o número de células sanguíneas mononucleares periféricas que estão a produzir interferão- γ (INF- γ) em resposta a antígenos específicos (ESAT-6 e CFP10) [22].

Os testes IGRA não são afetados por MNT nem pela vacinação, tornando-se mais específicos que o teste de sensibilidade à tuberculina. Contudo, demonstram sensibilidade semelhante ao TST e são mais dispendiosos. Estudos demonstram que os testes IGRA têm a capacidade de diagnosticar infeção latente e ativa, apesar de haver resultados díspares em vários estudos [22,34]. No diagnóstico de tuberculose ganglionar, o teste IGRA apresenta uma sensibilidade de 76-94%, apesar de um estudo demonstrar uma sensibilidade de 14,3%, e uma especificidade de 80,2-87%. Quanto ao teste de sensibilidade à tuberculina, este tem sensibilidade de 86% e especificidade de 67% [11,34].

Apesar dos valores de sensibilidade e especificidade, estes testes não distinguem uma infeção latente de uma infeção ativa, portanto não confirmam nem excluem a tuberculose como causa de linfadenopatia, especialmente em imigrantes de zonas de alta endemicidade e imunocomprometidos [20]. Contudo, foi demonstrado que os doentes com linfadenite tuberculosa apresentam valores de INF- γ mais elevados que aqueles com

infecção por MNT, o que poderá ajudar a diferenciar a entidade microbiológica da linfadenopatia. No entanto, são necessários mais estudos para determinar a validade do teste IGRA na determinação da etiologia [34].

Testes serológicos

Os testes mais frequentemente usados no diagnóstico de linfadenite tuberculosa necessitam de uma colheita de material de forma invasiva ou são dispendiosos e não estão disponíveis na maioria dos centros em zonas com baixos recursos. Daqui a necessidade de desenvolver um método rápido, económico e não invasivo para o diagnóstico. Desta forma, existem estudos para avaliar a contribuição dos testes serológicos no diagnóstico de tuberculose ganglionar.

Os seis antigénios alvo estudados são o ESAT-6, Ag85A, TB10.4, Rv3881c, lipoarabinomannan (LAM) e Ara₆-BSA. Destes antigénios, o LAM mostrou ser o antigénio isolado mais potente com uma sensibilidade de 30% e uma especificidade de 100%. O ESAT-6 foi o segundo mais sensível e específico, 13% e 96%, respetivamente.

Os resultados mostram que a capacidade diagnóstica dos anticorpos IgG e IgM de cada antigénio é baixa, mas quando são usadas combinações entre diferentes anticorpos a sensibilidade aumenta: ao combinar-se os anticorpos IgG para LAM e ESAT-6 a sensibilidade aumenta para 43%, mantendo-se uma especificidade de 96%, tornando-se a melhor combinação para diferenciar linfadenite tuberculosa de não tuberculosa [35].

As técnicas serológicas seriam de grande valor, principalmente em países em desenvolvimento. Todavia, têm baixa sensibilidade e especificidade, com variações de 0 a 100% e 59 a 100%, respetivamente [25,35]. Está demonstrado que os testes serológicos providenciam resultados inconsistentes e imprecisos com valores de sensibilidade e especificidade altamente variáveis, com grande proporção de falsos negativos e falsos

positivos. Desta forma, estes testes não são recomendados para o diagnóstico de tuberculose pulmonar e extrapulmonar [4,22].

As baixas sensibilidades obtidas através da serologia podem ser explicadas por uma adaptação do *M. tuberculosis* ao ambiente, com alteração da expressão genética. Poderá também existir uma resposta heterogénea do doente, não existindo nenhum antigénio ou conjunto de antigénios que sejam reconhecidos por todos ou pela maioria dos doentes. Além disso, o *M. tuberculosis* possui várias proteínas com homologia significativa com proteínas de outras micobactérias e não micobactérias, e os indivíduos saudáveis ou infetados possuem anticorpos por exposição a bactérias comensais e ambientais, assim como por vacinação, com reação cruzada com os antigénios do *M. tuberculosis*. Adicionalmente, poderão existir diferenças entre as estirpes infetantes [36].

Não foram encontradas variações na deteção de anticorpos IgG e IgM em doentes VIH positivos comparativamente aos doentes VIH negativos [35].

Radiografia do tórax

A radiografia do tórax pode demonstrar alterações parenquimatosas em 10-40% dos doentes, quer por doença ativa ou latente [11]. Dos doentes com tuberculose extrapulmonar com alterações na radiografia pulmonar, 20,8% mostrou cicatrizes, 20,8% demonstrou a presença de calcificações e 21,8% apresentou formações cavitárias ou outros sinais de tuberculose ativa [18].

No caso de a radiografia evidenciar alterações suspeitas, uma tomografia computadorizada de alta resolução deve ser realizada para melhor caracterização das alterações e identificação de opacidades mínimas ou pequenas cavidades [1].

Mesmo nos doentes com sintomas típicos (adenomegalias indolores, sudorese e perda de peso) e cavitação visível na radiografia do tórax, não deve ser excluído o

diagnóstico microbiológico sob o risco de subdiagnóstico de uma situação potencialmente letal como um linfoma [20].

Ecografia

A ecografia pode ser usada na região cervical, abdómen ou noutras localizações para estudo inicial de adenomegalias. Auxilia no diagnóstico diferencial entre linfadenite tuberculosa e adenite reativa, metástase e linfoma. Na tuberculose ganglionar, a tendência para a fusão de gânglios adjacentes é visualizada em 81% dos casos, contra 66% e 14%, no caso de metástases e linfoma. É observado um halo periférico em 84% dos casos de tuberculose, contra 55% e 7% dos anteriores. Os ecos internos (por calcificação) são também mais frequentes na tuberculose ganglionar (84%) que nos depósitos metastáticos (11%), não sendo encontrados no linfoma. As características anteriores não foram encontradas nos casos de adenite reativa. Outros achados ecográficos são: margens irregulares, centro hipocogénico com reforço posterior e ausência de hilo, sendo o último, ao contrário dos restantes, menos frequente na linfadenite tuberculosa. A razão entre o diâmetro maior e menor, que traduz a forma do gânglio, é superior na linfadenite tuberculosa, comparativamente aos restantes, o que indica uma forma mais oval ou alongada dos gânglios [24].

A ecografia é uma importante ferramenta na avaliação da adenomegalias cervicais, devendo ser usada em conjunto com a CAAF, podendo ser especialmente útil quando os resultados desta são inconclusivos.

Tomografia computadorizada

A tomografia computadorizada (TC) é útil na deteção de lesões e na realização de um diagnóstico presuntivo no mediastino e abdómen. No caso de os gânglios possuírem

inflamação granulomatosa sem necrose, a TC caracteriza-se por uma imagem homogénea sem zona central de baixa densidade. No caso de existir necrose central e periadenite periférica a imagem resultante é heterogénea, com uma área central de menor densidade e uma zona periférica hiperdensa, correspondendo a inflamação e neovascularização periférica [16]. Pode também ser visualizado através da TC com multidetetores a aderência e confluência das diferentes linfadenopatias, assim como a rutura da cápsula e a saída do conteúdo central para os planos adjacentes [37]. Num estudo com doentes idosos, não foram encontradas diferenças significativas nos achados na TC na fase inicial da tumefação ganglionar e no linfoma [15].

Outros exames imagiológicos

Na ressonância magnética, as lesões podem apresentar-se com diferentes intensidades dependendo do estadio de evolução, mas mais frequentemente apresentam-se como imagens hipointensas em T1 e hiperintensas em T2 [16].

Por fim, a acumulação de fluorodesoxiglucose na tomografia de emissão de positrões é mais comumente usada no diagnóstico de doenças malignas, mas também pode ser utilizada para diagnóstico de linfadenite tuberculosa.

Apesar da facilidade de realização dos métodos imagiológicos, os achados são inespecíficos e não podem ser usados para um diagnóstico definitivo entre linfadenite tuberculosa e disseminação metastática por via linfática. No entanto a presença de um tumor primário, adenopatias homogéneas à TC com contraste e a sua distribuição anatómica são fatores auxiliares na decisão diagnóstica [16]. Muitas vezes é necessário recorrer a outros meios para um diagnóstico definitivo, como citologia aspirativa guiada por ecografia ou TC e laparoscopia diagnóstica com biópsia.

Broncoscopia

A utilização da broncoscopia para o diagnóstico de tuberculose ganglionar intratorácica tem como objetivo diminuir a utilização de técnicas invasivas com maior risco de complicações como a mediastinoscopia ou a toracoscopia vídeo-assistida. A mediastinoscopia requer anestesia geral, cursa com uma morbidade de 1-2% e possui a desvantagem de não aceder aos gânglios hilares e subcarinais posteriores [38,39].

As técnicas possíveis por broncoscopia são a aspiração transbrônquica por agulha (TBNA), a aspiração transbrônquica por agulha guiada por ecografia endobrônquica (EBUS-TBNA) e a aspiração por agulha fina guiada por ecografia endoscópica (EUS-FNA).

A EBUS-TBNA tornou-se o exame diagnóstico *standard* para diagnóstico de neoplasia maligna e sarcoidose, mas pode também ser usada para o isolamento do *M. tuberculosis* em doentes com tuberculose ganglionar com localização mediastínica e hilar. Em relação à técnica convencional (TBNA), a EUS-TBNA permite a aspiração segura de gânglios hilares e gânglios com diâmetro inferior a 10mm. Possui uma sensibilidade de 94% no diagnóstico de linfadenite tuberculosa intratorácica [38] e resultados microbiológicos e citomorfológicos positivos em 47-63% e 84% dos casos, respetivamente [39].

Foi demonstrado que as amostras onde existe necrose são mais frequentemente positivas na cultura, o que pode ser explicado pela maior carga bacilar presente, responsável pela necrose, e desta forma existe mais facilmente crescimento em cultura [38].

Outra técnica possível por endoscopia é a EUS-FNA, sendo melhor tolerada pelos doentes, principalmente aqueles com tosse pronunciada, apesar da sedação adequada, e nos

doentes com diminuição da função respiratória [40]. No entanto, esta não permite a avaliação do mediastino anterior devido à interposição de ar da traqueia. Os resultados são inferiores à EBUS-TBNA mostrando coloração ZN e cultura positivas em 30% e 49%, respetivamente [39].

A TBNA possui uma taxa de positividade dos métodos microbiológicos inferior às técnicas anteriores: apenas 26% de culturas positivas [39].

Reagentes de fase aguda

A velocidade de sedimentação está elevada em 61-79,8% [6,18] e a proteína C reativa está aumentada em 63,1% dos doentes [18]. No entanto, estes são testes não específicos, estando elevados num grande número de situações infecciosas e não infecciosas.

Num estudo realizado em pessoas idosas, não foram encontradas diferenças significativas na contagem de leucócitos e proteína C reativa comparando doentes com linfadenite tuberculosa e linfoma [15].

Hemograma

Os doentes com linfadenite tuberculosa apresentam valores mais elevados de leucócitos e linfócitos que os doentes com linfadenopatia não tuberculosa, apesar dos valores estarem dentro do intervalo normal [34]. Em 3,5% dos doentes a contagem de leucócitos apresentava-se acima de $10\ 000/\text{mm}^3$ [18].

Um dado a favor do diagnóstico é o país de origem do doente, pois tendo em conta a prevalência de tuberculose no país, a virulência das estirpes em circulação, as condições socioeconómicas e prevalência de doenças associadas, como a infeção VIH, são adicionadas informações que podem facilitar o diagnóstico [9].

Em países com recursos escassos, como a Índia, muitos casos são diagnosticados tendo por base apenas a clínica, sem testes laboratoriais pois estes não estão disponíveis [17].

Tratamento

A terapêutica antimicobacteriana continua a ser a pedra basilar da tuberculose pulmonar e extrapulmonar, sendo recomendado para ambas o mesmo esquema terapêutico e a mesma duração, com exceção da localização meníngea e osteoarticular [8].

Num novo caso de tuberculose ganglionar está preconizado o tratamento usando uma associação de 4 fármacos: isoniazida (H), rifampicina (R), etambutol (E) e pirazinamida (Z) durante 2 meses, seguido de isoniazida e rifampicina durante mais 4 meses [8,11,22]. Vários estudos demonstraram um aumento do risco de desenvolvimento de resistências nos doentes que recebem tratamento intermitente, sendo recomendado pela Organização Mundial de Saúde o esquema diário relativamente aos restantes [8].

Na maioria dos doentes é suficiente o esquema de 6 meses, no entanto a terapêutica deve ser individualizada, podendo ser necessário um esquema com maior duração [14]. Contudo, vários estudos demonstram que o esquema terapêutico de 6 meses tem a mesma eficácia que o esquema de 9 meses [11,26].

Nos doentes tratados previamente, em países com baixa incidência de TB-MDR podem receber um esquema que contenha os fármacos de primeira linha: 2HRZES/1HRZE/5HRE (S = Estreptomicina). No caso de se tratar de um país com alta prevalência de TB-MDR, um doente com um contato provado com um caso de TB-MDR ou com história de tratamento de baixa qualidade deve ser iniciado um regime *standard* para TB-MDR [8].

No presente, a principal preocupação em termos de tratamento da tuberculose é a emergência de estirpes resistentes aos dois fármacos mais potentes, a isoniazida e a rifampicina. A resistência a estes dois antibacilares, independentemente da existência de resistência a outros, constitui a definição de tuberculose multirresistente (TB-MDR). A tuberculose extensamente resistente é definida por uma TB-MDR associada à resistência a

qualquer fluorquinolona e um fármaco de segunda linha injectável (canamicina, amicacina ou capreomicina).

É fundamental realizar o teste de sensibilidade aos antibióticos pois a demonstração de um microrganismo resistente altera significativamente o regime terapêutico e a sua duração, assim como diminui o risco de que um tratamento sub-ótimo induza uma seleção de estirpes resistentes. O tratamento inadequado pode ocorrer quando são usados fármacos em número, dose ou tomas insuficientes em bacilos susceptíveis ou quando os fármacos têm qualidade inadequada. Uma meta-análise, contendo informação da resistência aos fármacos e do genótipo no episódio inicial e no episódio recorrente, mostrou que o risco de desenvolvimento de multirresistência está aumentado 27 vezes nos doentes que recebem um regime terapêutico inadequado [41]. As resistências são mais frequentemente encontradas em doentes com tratamento anterior, existindo um risco de resistência a qualquer fármaco 4 vezes superior e de TB-MDR 10 vezes superior, em comparação com doentes que nunca receberam terapêutica [29].

A infeção VIH e a síndrome de imunodeficiência adquirida estão também indicadas como uma causa importante de emergência de estirpes multirresistentes e extensamente resistentes [7,32]. Isto porque os doentes VIH positivos são mais susceptíveis à infeção e, por isso, a maior prevalência de TB-MDR pode ser explicada pela infeção recente de estirpes resistentes e não pela reativação de uma infeção passada [22].

Nos doentes de novo, em regiões com altos níveis de resistência à isoniazida, é recomendado o esquema HRZE durante 2 meses seguido de HRE durante quatro meses [8].

Após a confirmação de TB-MDR os doentes podem ser tratados com um regime *standard* ou por um regime individual baseado nos testes de sensibilidade aos fármacos [8]. Não devem ser usados fármacos com risco de resistência cruzada com fármacos

provadamente ineficazes e é fundamental a história detalhada da utilização anterior dos fármacos antibacilares. Nos locais onde não estão disponíveis testes de diagnóstico rápido de TB-MDR deve ser iniciado um regime *standard* e, após o resultado, este pode ser continuado ou substituído por um regime individualizado [8].

O regime *standard* na TB-MDR consiste em quatro fármacos bactericidas (ofloxacina ou levofloxacina, canamicina, etionamida e pirazinamida) e dois bacteriostáticos (etambutol e cicloserina) durante 6-9 meses (fase intensiva), seguido de ofloxacina ou levofloxacina, etionamida, etambutol e cicloserina durante 18 meses (fase de continuação). Após 6 meses de tratamento, é iniciada a fase de continuação se ao quarto mês após início da terapêutica a cultura é negativa. No caso de esta ser positiva, a fase intensiva é alargada um mês. O alargamento para além de 1 mês depende dos resultados da cultura ao quinto e sexto meses. No máximo, a fase intensiva pode ser aumentada em três meses, ao fim dos quais os doentes iniciam a fase de continuação independentemente dos resultados da cultura [32].

O tratamento de situações com padrão de resistência diferente da TB-MDR deve ser baseado num esquema individualizado a partir do resultado do teste de sensibilidade aos antibióticos e na história clínica detalhada [8].

A otimização do tratamento associadamente ao diagnóstico rápido de resistência aos fármacos de primeira e segunda linhas melhora significativamente o resultado do tratamento e diminui o risco de aquisição de resistência.

Todos os doentes devem ser vigiados, no sentido de observar a resposta à terapêutica e efeitos secundários e auxiliar a completar o esquema terapêutico. No caso da tuberculose extrapulmonar, a avaliação clínica é a forma usual de avaliar a resposta ao tratamento, sendo o peso do doente um indicador útil, assim como na forma pulmonar [8].

É importante ter em consideração que na tuberculose ganglionar a resposta à terapêutica é mais lenta do que na sua forma pulmonar [11].

O uso de corticosteroides na linfadenite tuberculosa é controverso. No entanto, poderá ser útil em doentes com formas de tuberculose extrapulmonar grave ameaçadora de vida. Contudo, múltiplos estudos demonstram ausência de melhoria nos doentes com associação de corticosteroides à terapêutica antibacilar no caso de linfadenite tuberculosa e o seu uso é desaconselhado pela Sociedade Americana de Doenças Infecciosas [11,14].

Apesar da associação das terapêuticas farmacológica e cirúrgica ter resultados favoráveis, a cirurgia está recomendada apenas em algumas circunstâncias, nomeadamente a resistência ao tratamento médico, evitando-se tratamento antibiótico ou corticosteroide prolongado. Também se pode recorrer à excisão ganglionar para aumento da qualidade de vida por desconforto persistente apesar da resposta à terapêutica, como nos casos de reação paradoxal [11].

O tratamento da linfadenite por MNT é cirúrgico e apresenta taxas de resolução superiores a 70% [11,12].

Os princípios básicos do tratamento dos doentes VIH positivos são os mesmos que nas situações VIH negativas, apesar de por um longo tempo se pensar que os esquemas mais longos melhoravam os resultados nestes doentes. Um estudo demonstrou que apesar de as recorrências serem significativamente reduzidas, a melhoria dos doentes no final do tratamento não era superior no esquema de 9 meses, comparativamente aos 6 meses [22]. Os doentes que já tenham realizado previamente um tratamento para tuberculose devem receber o mesmo esquema terapêutico indicado para doentes VIH negativos [8]. Apesar do esquema não diferir, o tratamento nas situações da coinfeção confere problemas de interação farmacológica. No tratamento da tuberculose são usados dois potentes fármacos com a melhor atividade antibacilar, a rifampicina e a isoniazida. Quando se associa a

rifampicina aos anti-retrovíricos, existe uma indução da atividade do citocromo P450 hepático, resultando em baixos níveis dos agentes inibidores da protease. Desta forma, a solução inclui o deferimento da terapêutica anti-retrovírica até ao término da terapêutica antibacilar, ou a descontinuação dos anti-retrovíricos durante os dois primeiros meses de antibacilares, usando um fármaco alternativo à rifampicina na fase de continuação. A rifabutina é um indutor menos potente do citocromo 450 e existe menor redução da concentração dos anti-retrovíricos, sendo geralmente recomendado para reduzir a interação farmacológica. O esquema anti-retrovírico recomendado consiste na associação de dois inibidores da transcriptase reversa nucleosídeos (ITRN) e de um inibidor da transcriptase reversa não nucleosídeo (ITRNN). Os ITRN de escolha são a zidovudina ou o tenofovir, combinado com lamivudina ou entricitabina. Os ITRNN de primeira linha são o efavirenze e a nevirapina [8]. O efavirenze pode ser usado em segurança com os fármacos antibacilares *standard*, sendo superior à nevirapina na resposta virológica e mortalidade [7,22,42]. Podem ainda ser administradas menores doses de rifampicina, havendo no entanto um risco aumentado de falência terapêutica e desenvolvimento de resistência farmacológica [7].

No presente, existe forte evidência que a mortalidade é menor quando as infeções são tratadas simultaneamente, principalmente quando a contagem de CD4 é inferior a 50 células/ μ l. Assim, o co-tratamento é o utilizado na maioria dos doentes, sendo recomendado que o tratamento antibacilar seja iniciado de imediato e o anti-retrovírico seja iniciado logo que o doente esteja estável e tolerante à terapêutica [7,8,22].

Nas crianças, quando se usam doses mg/kg semelhantes ao adulto, as concentrações são muito mais baixas e estas são tratadas com doses sub-ótimas [7].

A magnitude e a variabilidade das interações farmacológicas são diferentes dependendo da idade da população, o que reflete a variação da expressão das enzimas

metabolizadoras à medida que a criança se desenvolve [7]. Desta forma, as recomendações no adulto, incluindo o co-tratamento TB/VIH não podem ser aplicadas diretamente em idade pediátrica. A maioria dos fármacos não estão disponíveis em formulações pediátricas e as formulações líquidas, apesar de serem mais fáceis de administrar, são mais dispendiosas e algumas têm uma toxicidade inaceitável como, por exemplo, isoniazida em xarope, com uma solução de sorbitol que causa diarreia [42].

Nas crianças está recomendado, para o tratamento da tuberculose ganglionar, o esquema de seis meses, com uma fase intensiva de dois meses com isoniazida, rifampicina, pirazinamida, etambutol, seguido de isoniazida e rifampicina durante quatro meses. No entanto, também poderá ser utilizado um esquema constituído por isoniazida, rifampicina e pirazinamida durante dois meses, seguido de isoniazida e rifampicina durante quatro meses ou isoniazida e etambutol durante seis meses [12].

O tratamento durante seis meses leva habitualmente à cura, sobretudo quando se utiliza a associação de isoniazida, rifampicina e pirazinamida, sendo a cirurgia excecional [13].

Na criança, as doses a utilizar são: 15mg/Kg de isoniazida e rifampicina (máximo de 300mg e 600mg, respetivamente), 25-40mg/Kg de pirazinamida (máximo de 2000mg) e 15-30mg/Kg de etambutol [12]. No adulto a isoniazida é recomendada em dose diária de 4 a 6mg/kg, a rifampicina 8 a 12mg/Kg, a pirazinamida de 20 a 30mg/Kg e o etambutol de 15 a 20mg/Kg [8].

Os benefícios da corticoterapia são controversos, contudo um estudo demonstrou uma grande melhoria nas crianças com linfadenite tuberculosa mediastínica, [11] sendo também indicada na resposta paradoxal [13].

Resposta paradoxal

A resposta paradoxal (RP) é considerada uma reação imunitária que ocorre durante a eliminação dos bacilos infetantes, sob terapêutica antibacilar. Os mecanismos apontados como responsáveis são uma reação de hipersensibilidade retardada, um aumento da função imunitária ou uma resposta a antígenos micobacterianos, como as proteínas da parede celular, durante a morte das bactérias provocada pela terapêutica.

Caracteriza-se por um agravamento de linfadenopatias pré-existentes, baseado nos achados clínicos ou radiológicos ou pelo aparecimento de novas lesões. Na maioria dos casos existe aumento do diâmetro de adenomegalias existentes previamente [44]. Pode cursar com aumento dos gânglios linfáticos, sinais inflamatórios, febre, rutura ou fístula com drenagem de conteúdo purulento. Está descrito um caso em que o aumento dos gânglios linfáticos localizados no espaço retrofaríngeo condicionou obstrução da via aérea, com necessidade de realização de traqueostomia [46].

Em crianças, não é raro a obstrução da via aérea por aumento do diâmetro de linfadenopatias mediastínicas, podendo também ocorrer por alargamento de gânglios cervicais e supraclaviculares [12].

A resposta paradoxal durante a terapêutica surge quando o tratamento foi iniciado há pelo menos duas semanas e em que aparentemente existiu uma melhoria inicial. É difícil diferenciar resposta paradoxal de recaída; no entanto, o aumento dos gânglios linfáticos na ausência de cultura positiva pode ser considerada como uma resposta mediada imunologicamente [26,43,47]. Caracteristicamente, existe hipercaliémia nos casos de RP [22].

A RP ocorre em 20-30% de todos os doentes que estão a realizar terapêutica antibacilar [11,43,44]. É mais frequente em doentes VIH positivos, ocorrendo em 40% destes doentes com tuberculose ganglionar [46]. É mais frequente em mulheres e jovens e

o aparecimento da resposta paradoxal faz-se em média 8 semanas após o início do tratamento, [43,44] mas também pode ser visto após o tratamento [25,47]. A resposta paradoxal após o tratamento é definida como o agravamento das linfadenopatias depois do tratamento completo, ausência de recaída microbiológica e regressão espontânea das lesões tuberculosas sem realização de mais tratamento antituberculoso. Nestes casos existe menos frequentemente flutuação ganglionar e formação de fístula, comparativamente àquela que ocorre durante o tratamento [47].

Os fatores de risco que poderão estar associados a um maior probabilidade de desenvolver a RP são as dimensões do gânglio: um tamanho basal inferior foi encontrado em doentes com RP, relativamente aos doentes sem RP. Estes gânglios mais pequenos possuem menos flutuação e drenagem, resultando numa menor depleção de bacilos e maior grau de hipersensibilidade a antigénios persistentes [47]. Da mesma forma, uma maior carga de micobactérias poderá produzir os mesmos efeitos. Foi também verificado um aumento ligeiro, mas significativo, do valor basal de monócitos em doentes que depois desenvolveram RP. Contudo, estas diferenças são difíceis de se verificarem na prática e assim terem utilidade clínica [12,43,44]. A ocorrência de RP foi também associada a gânglios cervicais bilaterais e baixo índice de massa corporal [12].

O tratamento consiste em corticoterapia, punção ou incisão com drenagem ou excisão cirúrgica. Estudos mostram que os corticosteroides poderão não ser vantajosos no tratamento de resposta paradoxal em doentes com linfadenite tuberculosa [43,44]. Além destes fármacos, outros imunossuppressores podem ser usados, incluindo ciclofosfamida. O uso de inibidores do TNF- α pode ser vantajoso em situações graves com risco de vida em doentes que não respondem a corticoterapia, dado que o fator de necrose tumoral tem um papel importante no processo inflamatório granulomatoso em resposta ao *M. tuberculosis* [45]. A evolução é muito variável mas, geralmente, não é necessária a interrupção nem o

prolongamento da terapêutica antituberculosa, sendo suficiente a aspiração da adenopatia e os procedimentos cirúrgicos geralmente não são usados [45,46]. Nos casos da coinfeção TB/VIH, raramente é necessária a suspensão da terapêutica anti-retrovírica [8,22]. Num estudo, 56% dos doentes mostraram resolução espontânea sem intervenção terapêutica [43] e a duração da RP foi semelhante em doentes com e sem terapêutica corticosteroide (64 e 68 dias, respetivamente). No entanto, quando é feita a aspiração do conteúdo purulento, incisão e drenagem ou a excisão ganglionar existe um encurtamento da duração dos sintomas [11,12,44].

A duração média da sintomatologia são cerca de 68 dias, contudo pode variar entre 28 e 231 dias [44] e a mortalidade é baixa, estando sobretudo associada a envolvimento do sistema nervoso central [22].

Esta resposta paradoxal na tuberculose pode constituir parte da síndrome inflamatória de reconstituição imune, em doentes VIH positivos a realizar terapêutica anti-retrovírica, sendo esta resposta inflamatória exagerada atribuída a uma recuperação da imunidade [48]. No caso da associação da infeção tuberculosa e VIH, a resposta paradoxal deverá ser diferenciada de outras complicações como toxicidade farmacológica, infeções oportunistas, falência do tratamento e possível não adesão à terapêutica.

Nos doentes VIH positivos, o tempo médio de desenvolvimento são 15 dias após o início da terapêutica anti-retrovírica, desenvolvendo-se a maioria nas primeiras 2-6 semanas. A contagem de CD4 aos 6 meses não mostrou alterações significativas entre aqueles que desenvolveram e os que não desenvolveram RP, [48] apesar da baixa contagem de células CD4 ser considerada um fator de risco em outros estudos [22,46,48]. Outros fatores de risco são: uma carga viral elevada no início do tratamento, declínio rápido da carga viral, uma alta carga bacilar, início próximo das terapêuticas

antituberculosa e anti-retrovírica, e predisposição genética, [22] assim como um elevado aumento do número de linfócitos totais [46].

Desenvolvimento/ Futuro

Nos últimos anos têm-se realizados esforços no sentido de aperfeiçoar as técnicas diagnósticas e terapêuticas, mas também preventivas, com o objetivo de colmatar as insuficiências do presente.

A avaliação microscópica de esfregaços tem mais de cem anos e é relativamente insensível. A cultura, atual *gold standard*, requer infraestruturas especializadas, não estando disponíveis em países com baixos recursos, e os resultados demoram semanas. Os métodos para identificação de resistência estão largamente dependentes da cultura, partilhando com esta as desvantagens supracitadas. No sentido de ultrapassar estas barreiras, têm sido desenvolvidos novos métodos diagnósticos desde 2007: cultura líquida e testes rápidos de diagnóstico de tuberculose e multirresistência, sondas moleculares, microscopia usando fluorescência e Xpert MTB/RIF. Os testes que se encontram em última fase de desenvolvimento são uma segunda geração de sondas moleculares para rápido diagnóstico de multirresistência e um teste rápido para diagnóstico em microscopia.

Os fármacos usados neste momento em primeira linha têm cerca de 50 anos, necessita de esquemas terapêuticos com duração mínima de 6 meses, possuem efeitos secundários significativos (mais graves quando é necessário recorrer aos de segunda linha como no casos de multirresistência) e possuem interações frequentes com a terapêutica anti-retrovírica. São necessárias novas drogas para simplificar e encurtar o tratamento, melhorar a eficácia e a tolerabilidade, e otimizar o tratamento simultâneo da tuberculose e da infeção VIH. Existem no momento 10 substâncias em estudo, das quais 3 em fase III de investigação, como por exemplo a rifapentina. Este fármaco em associação com a isoniazida poderá ser usado em esquema de 3 meses para tratamento de tuberculose latente. Duas moléculas em fase III estão a ser estudadas para esquema de tratamento com duração de 4 meses, no qual uma fluoroquinolona (levofloxacina, gatifloxacina ou moxifloxacina) é

usada em substituição do etambutol e isoniazida [4,42]. As fluoroquinolonas não apresentam interação farmacológica significativa; no entanto, os efeitos secundário limitam o seu uso em crianças e grávidas [42]. Outros estão em investigação no tratamento de tuberculose multirresistente: bedaquiline, delamanide e nitroimidazóis como o PA-824. O bedaquiline inibe a síntese de ATP bacteriano e mostrou atividade potente contra TB-MDR, apesar de a sua atividade estar limitada ao *M. tuberculosis* e com baixa eficácia noutras micobactérias [42]. O delamanide demonstra também eficácia em TB-MDR, tendo este a vantagem de não ser metabolizado no fígado e assim ter baixo risco de interação metabólica [7]. O fármaco sequeella está também em estudo, tendo uma semelhança estrutural ao etambutol, mas mostrando uma atividade dez vezes superior a este em modelos pré-clínicos. Apresenta atividade sinérgica com a isoniazida e rifampicina, mostrando eficácia *in vitro* em estirpes resistentes ao etambutol [7,42]. A sutezolida, a linezolida e o AZD5847 são oxazolidinonas que se encontram em fase II do desenvolvimento [7]. O seu mecanismo de ação consiste na inibição da síntese proteica. A linezolida na dose de 600mg está a ser estudada para o tratamento de tuberculose extensamente resistente e na dose de 300 mg para tuberculose multirresistente [4]. Contudo, mostra toxicidade neurológica e hematológica [42].

É urgente o desenvolvimento de fármacos mais eficazes, mais tolerados e com menos efeitos secundários para o tratamento de tuberculose suscetível aos fármacos, resistente e latente, e o desenvolvimento de estratégias de dosagem em pediatria. Por outro lado, existe também a necessidade de esquemas mais curtos e que possam ser usados em segurança em co-administração com a terapêutica anti-retrovírica.

A vacinação existente (BCG - bacilo Calmette-Guérin) protege de formas de tuberculose grave, como a forma meníngea ou miliar, em crianças. No entanto, a eficácia na prevenção da forma pulmonar em adultos é muito variável. A revacinação na

adolescência não aumenta a sua eficácia protetora, [49] também não sendo aconselhada em crianças infetadas com VIH, pelo risco de desenvolvimento de doença tuberculosa [4]. Existem, no momento, duas alternativas em estudo: a substituição da atual vacina através da criação de uma versão melhorada da vacina BCG ou uma vacina viva atenuada de *M. tuberculosis*. A outra abordagem é a tentativa de renovar o esquema de vacinação: aplicando-se a primeira dose ao nascimento e uma dose de reforço aos 3-9 meses de idade ou na adolescência. Esta dose de reforço é uma vacina construída para aumentar a eficácia protetora da BCG, usando uma vacina proteica com um adjuvante para aumentar os níveis de resposta celular ou através do desenvolvimento de um vetor viral recombinante. Existem no momento 9 candidatos em estudos clínicos, sendo a MVA85A aquela que se encontra em estadios mais avançados e entrará em fase III em 2 a 3 anos, podendo estar a ser usada em 2020 como potenciadora da vacina BCG [4,49].

Caso clínico

Doente do sexo masculino, de 45 anos, natural da Venezuela, residente em Portugal, que se dirige à consulta de hematologia no dia 9/01/2012 por adenomegalias axilares esquerdas, sem outras queixas, negando sintomas constitucionais. Após estudo do quadro é enviado para o Centro de Diagnóstico Pneumológico, no dia 8/02/2012.

Trata-se de um doente com antecedentes de pneumonia em 2002, tendo realizado broncofibroscopia com biopsia da mucosa brônquica, aspirado brônquico e lavagem broncoalveolar, salientando-se que o estudo microbiológico mostrou-se negativo para a presença de micobactérias. Tem ainda antecedentes de esofagite de refluxo com evolução de cerca de 20 anos, corrigida cirurgicamente em Setembro de 2005 através de funduplicatura de Nissen, complicada de disfagia, tendo sido necessário proceder a 2 dilatações endoscópicas. Em 2005, sofreu um acidente profissional, tendo-se picado com uma agulha infectada de um doente HIV₁ e VHC positivo. Realizou profilaxia com HAART (entricitabina + tenofovir + lopinavir+ ritonavir). As serologias (hepatite B, C, HIV, VDRL) no *follow-up* mostraram sempre resultados negativos.

Sem fatores de risco como dependência alcoólica, de drogas IV ou de outras drogas, reclusão, sem abrigo ou habitação numa residência comunitária.

Sem informação acerca da vacinação.

Encontrava-se com bom estado geral. Restante exame físico sem alterações.

Os estudos analíticos do dia 9/01/2012 (doseamento de imunoglobulinas e complemento, eletroforese das proteínas plasmáticas e metabolismo lipídico) não demonstraram alterações relevantes.

O estudo serológico demonstrou positividade para EBV pela técnica EBNA, Ac HBc e Ac HBs também com títulos positivos, apesar de ser negativo para Ag Hbs, AcHBc, Ac HVC e HIV 1 e 2. Encontrava-se ainda sem evidência serológica de infecção aguda por toxoplasma, citomegalovírus, herpes simplex tipo 2 e treponema pallidum.

Não realizou prova de Mantoux ou Teste IGRA.

Na ecografia axilar realizada a 09/01/2012 foi possível observar adenopatias axilares esquerdas, hipocogénicas, sem halo, com 17x8mm e 13x8mm, existindo ainda outras formações ganglionares mas sem critérios de suspeição. No estudo abdominal não se identificam alterações nomeadamente do fígado ou do baço que apresentam normal volume e textura homogénea. Não se identificaram adenopatias lombo-aórticas.

A radiografia do tórax não revelou alterações.

Foi realizada biópsia excisional, sendo que o exame anatomo-patológico (10/01/2012) mostrou um gânglio linfático com volumosos folículos hiperplásicos e proliferação de células monocitóides, contendo também numerosos focos de necrose com polimorfonucleares e detritos. Existia ainda fibrose da cápsula e sinais de periadenite. A pesquisa de microorganismos com Warthin Starry revelou numerosas formas bacilares nas áreas de necrose; PAS e Ziehl Neelsen negativos”

No dia 20/01/2012 foi realizada a pesquisa de micobactérias no pús do abcesso, sendo o exame microscópico direto negativo. Contudo, por técnicas de biologia molecular (amplificação e hibridização de ácidos nucleicos) foi possível identificar *Mycobacterium tuberculosis complex* e a pesquisa de ácidos nucleicos de micobactérias por PCR no pús do abcesso foi igualmente positiva.

Foi proposto tratamento com isoniazida 300 mg + rifampicina 600mg + pirazinamida 1500 mg + etambutol 1200mg + vitamina B6 40 mg, diariamente durante 2 meses, seguido de 7 meses de isoniazida e rifampicina. Este tratamento foi iniciado a 08/02/2012, sem necessidade de toma sob observação direta.

O doente foi observado mensalmente em consulta no CDP. Durante todo o tempo de vigilância cumpriu o esquema terapêutico, com boa tolerância, bom estado geral e sem alteração dos parâmetros analíticos. Não ocorreu aparecimento de novas adenomegalias durante o tratamento. Ao fim de dois meses, o esquema foi alterado para isoniazida + rifampicina + vitamina B6, o que manteve durante mais 7 meses. Aos 8 meses de tratamento (12/10/2012) realizou ecografia que mostrou não haver já adenopatias: “Presentemente não se identificam adenopatias na axila esquerda nem outras alterações significativas dos tecidos moles desta região.”

Tendo em conta o bom estado clínico e analítico, conclui-se pelo sucesso terapêutico.

Conclusão

Apesar dos múltiplos avanços desde a descoberta do agente etiológico, por Robert Koch em 1882, a erradicação da tuberculose está longe de ser conquistada assim como o seu controlo, verificando-se uma incidência crescente de estirpes multirresistentes aos tratamentos existentes em algumas partes do globo. É uma doença principalmente associada à pobreza, com 95% dos casos e 98% das mortes ocorrendo em países em vias de desenvolvimento. Contrariamente à tuberculose pulmonar que tem vindo a diminuir, a TB-EP tem incidência crescente, em grande parte devido ao surgimento da infeção VIH, tornando-se a infeção oportunista mais frequente e a maior causa de morte nestes doentes, em países em desenvolvimento. Apesar dos objetivos conquistados, o diagnóstico e tratamento dos casos de tuberculose multirresistente (TB-MDR) constitui ainda um desafio. A prevalência real da TB-MDR é desconhecida mas as estimativas sugerem que o desenvolvimento de resistências em doentes com tuberculose mantém-se estável a nível mundial.

O diagnóstico de tuberculose ganglionar mostra-se difícil pela variabilidade das suas características clínicas, ausência de sintomas sistémicos, achados físicos e laboratoriais inconsistentes e pela grande quantidade de diagnósticos diferenciais: adenite provocada por outra bactéria além das micobactérias, doença fúngica, toxoplasmose, sarcoidose, doença da arranhadura do gato, higroma quístico, hiperplasia não específica e neoplasia primária ou metastática. O diagnóstico definitivo é muitas vezes difícil porque a maioria das técnicas disponíveis são pouco sensíveis ou específicas e outras são dispendiosas e requerem técnicos especializados. Mesmo havendo disponibilidade de acesso a técnicas laboratoriais, como os testes moleculares, o resultado tem de ser interpretado tendo em conta a clínica do doente. No passado e, em alguns casos de difícil

diagnóstico no presente, a resposta à terapêutica antituberculosa é um auxiliar na confirmação do diagnóstico.

O diagnóstico definitivo é realizado por cultura ou reação em cadeia de polimerase (PCR) demonstrando o *M. tuberculosis* num gânglio linfático alterado. No entanto, outras técnicas podem auxiliar a sua confirmação, como a presença de bacilos ácido-álcool resistentes na coloração ZN ou de uma inflamação granulomatosa na CAAF. Na cultura, o sistema BACTEC MGIT 960 apresenta a maior sensibilidade na deteção do complexo *M. tuberculosis* quando comparado com o sistema MB/BacT ALERT 3D e meio de Lowenstein-Jensen. Contudo, na deteção das MNT o meio de Lowenstein-Jensen mostrou ser o mais sensível (76,2%). Em estudos comparativos, a taxa de positividade da cultura é maior quando o material é colhido por biópsia excisional comparativamente à CAAF. No entanto, a biópsia tem vindo a ser substituída pela CAAF, por esta ser menos invasiva e mais económica, estando o estudo histopatológico reservado para os doentes que, apesar de um resultado negativo na CAAF, cultura ou coloração ZN, permanecem com elevada suspeição clínica. A PCR, por se tratar de um método dispendioso e com necessidade de técnicos especializados, é reservada para as situações problemáticas em que a suspeição é elevada mas a cultura e a coloração ZN são negativas, não sendo usada quando a cultura em meio de Lowenstein-Jensen é positiva. A ISH possui resultados semelhantes à PCR, mas com a vantagem de detetar menos bacilos que esta, ser mais rápida e fornecer informação morfológica do tecido, podendo vir a constituir uma alternativa aos métodos baseados na amplificação de material genético. O método Xpert MTB/RIF tem a capacidade de revolucionar o diagnóstico de tuberculose e de tuberculose multirresistente já que, ultrapassa inúmeras barreiras no estabelecimento do diagnóstico em países em desenvolvimento, tais como recursos humanos e laboratoriais. O TST e o teste IGRA não

distinguem uma infecção latente de uma infecção ativa, portanto não confirmam nem excluem a tuberculose como causa de linfadenopatia, tendo um valor diagnóstico limitado. Os testes serológicos mostraram resultados inconsistentes, com grande proporção de falsos negativos e positivos, não estando recomendados para diagnóstico de tuberculose pulmonar ou extrapulmonar.

Apesar da facilidade de realização dos métodos imagiológicos, os achados são inespecíficos e não podem ser usados para um diagnóstico definitivo entre linfadenite tuberculosa e disseminação metastática por via linfática.

A broncoscopia pode ser usada para isolamento de *M. tuberculosis* em doentes com tuberculose ganglionar com localização mediastínica e hilar.

Para tratamento está recomendado o mesmo esquema terapêutico e a mesma duração que é utilizado na tuberculose pulmonar, com exceção da localização meníngea e osteoarticular. Num novo caso de tuberculose ganglionar está preconizado o tratamento usando HRZE durante 2 meses, seguido de HR durante mais 4 meses. O uso de corticosteroides na linfadenite tuberculosa é controverso. No entanto, poderá ser útil em doentes com formas de tuberculose extrapulmonar grave ameaçadora de vida. Num caso de TB-MDR os doentes podem ser tratados com um regime *standard* ou por um regime individual baseado nos testes de sensibilidade aos fármacos.

Nos últimos anos tem-se observado uma evolução rápida no diagnóstico e tratamento da tuberculose. Contudo, o progresso está restringido a tecnologias antigas e têm-se sido aplicados esforços para desenvolver novos métodos diagnósticos, fármacos para combater a resistência e também métodos preventivos, como a vacinação. No sentido de ultrapassar estas barreiras, têm sido desenvolvidos novos métodos diagnósticos como a cultura líquida, testes rápidos de diagnóstico de tuberculose e multirresistência, sondas moleculares, microscopia usando fluorescência e Xpert MTB/RIF.

No entanto, são ainda necessários novos fármacos para simplificar e encurtar o tratamento, melhorar a eficácia e a tolerabilidade, e otimizar o tratamento simultâneo da tuberculose e da infecção VIH.

Referências Bibliográficas

1. Rodrigo-Nuñez J, AvRodrigo-Nuñez J, Avelar FJ, Marquez F, Rivas-Santiago B, Quiñones C e Guerrero-Barrera AL. *Mycobacterium tuberculosis complex detected by modified fluorescent in situ hybridization in lymph nodes of clinical samples*. Journal of Infection in Developing Countries 2012, 6(1): p.58-66.
2. Handa U, Mundi I e Mohan S. *Nodal tuberculosis revisited: a review*. Journal of Infection in Developing Countries 2012, 6(1): p.6-12.
3. Ligtheim LJ, Nicol MP, Hoek KGP, Jacobson R, D. van Helden P, Marais BJ, Warren RM e Wright CA. *Xpert MTB/RIF for rapid diagnosis of tuberculous lymphadenitis from fine-needle-aspiration biopsy specimens*. Journal of Clinical Microbiology, Nov 2011, p.3967-3970.
4. Baddley A, Dias HM, Falzon D, Floyd K, Gilpin C *et al*. *WHO Global tuberculosis control report 2011*.
5. Blanc L, Falzon D, Floyd K, Garcia I, Gilpin C, Hiatt T *et al*. *WHO Global tuberculosis control report 2010*.
6. Agarwal AK, Sethi A, Sethi D, Malhotra V e Singal S. *Tubercular cervical adenitis: Clinicopathologic analysis of 180 cases*. Journal of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Oct 2009, volume 38, N°5, p.521-525.
7. Dooley KE, Kim PS, Williams SD e Hafner R. *TB and HIV therapeutics: pharmacology research priorities*. Hindawi Publishing Corporation, AIDS Reserch and Treatment, 2012, article ID 874083.
8. Steingart K, Hopewell P, Nunn A, Phillips P *et al*. *WHO Treatment of tuberculosis guidelines*, quarta edição, 2010.

9. Clevenbergh P, Maitrepierre I, Simoneau G, Raskine L, Magnier JD, Sanson-Le-Pors MJ, Bergmann JF e Sellier P. *Lymph node tuberculosis in patients from regions with varying burdens of tuberculosis and human immunodeficiency virus (HIV) infection*. La Presse Médicale, 2010, 39: p.233-230.
10. Mittal P, Handa U, Mohan H e Gupta V. *Comparative evaluation of fine needle aspiration cytology, culture, and PCR in diagnosis of tuberculous lymphadenitis*. Diagnostic Cythopathology, 2010, Volume 39, N° 11, p.822-826.
11. Fontanilla JM, Barnes A e Fordham von Reyn. *Current diagnosis and management of peripheral tuberculous lymphadenitis*. Clinical Infectious Diseases, 2011, 53(6): p.555-562.
12. Donald PR, *The chemotherapy of tuberculous lymphadenopathy in children, Elsevier Journal*. Tuberculosis 90 (2010) p.213-224.
13. Anleu ID, Serratos JR e Garcia AA. *Linfadenopatia tuberculosa. Diagnóstico y tratamiento. Informe de um caso*. Arch Argent Pediatric 2011; 109(1): p.26-29.
14. Sharma SK e Mohan A. *Extrapulmonary tuberculosis*. Indian Journal Medicine Research 120, Oct 2004, p.316-353.
15. Kato T, Kimura Y, Saware M, Masuda Y e Kitamura K. *Cervical tuberculous lymphadenitis in the elderly: comparative diagnostic findings*. The Journal of Laryngology and Otology, 2009, 123, p.1343-1347.
16. Zhang M, Li M, Xu GP, Liu HJ. *Neoplasm-like abdominal nonhematogenous disseminated tuberculous lymphadenopathy: CT evaluation of 12 cases and literature review*. World Journal of Gastroenterology, Sept 2011, 17(35): p.4038-4043.

17. Purohit MR, Mustafa T, Morkve O e Sviland L. *Gender differences in the clinical diagnosis of tuberculous lymphadenitis – a hospital-based study from central India*. International Journal of Infectious Diseases, 2009, volume 13, p.600-605.
18. Yoon HJ, Song YG, Park W, Choi JP, Chang KH e Kim JM, Clinical manifestations and diagnosis of extrapulmonary tuberculosis, Yonsei Medical Journal, 2004, volume 45, N° 3, p.453-461.
19. Kamana N, Wanchu A, Sachdeda R, Kalra N e Rajawanshi A. *Tuberculosis is the leading cause of lymphadenopathy in HIV-infected persons in India: results of a fine-needle aspiration analysis*. Scandinavian Journal of Infectious Disease, 2010, 42: p.827-830.
20. Sellar RS, Corbett EL, D'Sa S, Linch DC e Ardesna K M. *Treatment for lymph node tuberculosis*. BMJ, 2010, volume 340, p.653-655.
21. Lotz A, Ferroni A, Beretti JL, Dauphin B, Carbonnelle E, Guet-Revillet H, Veziris N, Heym B, Jarlier V, Gaillard JL, Pierre-Audigier C, Frapy E, Berche Patrick, Nassif X e Bille E. *Rapid identification of mycobacterial whole cells in solid and liquid culture media by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry*. Journal of Clinical Microbiology, 2010, 48(12): p.4481-4486.
22. Padmapriyadarsini C, Narendram G e Swaminathan S. *Diagnosis and treatment of tuberculosis in HIV co-infected patients*. Indian Journal Medicine Research 134, Dec 2011, p.850-865.
23. Sorlozano A, Soria I, Roman J, Huertas P, Soto MJ, Piedrola G e Gutierrez. *Comparative evaluation of three culture methods for the isolation of*

- mycobacteria from clinical samples*. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 19(10), p.1259-1262.
24. Khanna R, Sharma AD, Khanna S, Kumar M e Shukla RC. *Usefulness of ultrasonography for the evaluation of cervical lymphadenopathy*. World Journal of Surgical Oncology, 2011, 9:29.
25. Derese Y, Hailu E., Assefa T., Bekele Y., Mihret A., Aseffa A., Hussien J., Ali I. e Abebe M.. *Comparison of PCR with standart culture of fine needle aspiration samples in the diagnosis of tuberculosis lymphadenitis*. Journal of Infection in Developing Countries 2012; 6(1): p.53-57.
26. Blaikley JK, Khalid S e Ormerod L.P, *Management of peripheral lymph node tuberculosis in routine practice: an unselected 10-year cohort*. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, 2010, 15(3): p.375-378.
27. Gori A, Bandera A, Marchetti G, Esposti AD, Catozzi L, Nardi GP, Gazzola L, Ferrario G, Embden JDA, Sooligen D, Moroni M e Franzetti F. *Spoligotyping and Mycobacterium tuberculosis*. Emerging Infectious Diseases, Aug 2005, Volume 11, N° 8, p. 1242-1248.
28. Jagielski T, Augustynowicz-Kopec E, Pawlik K, Dziadek J, Zwolska Z e Bielecki J. *A two-spet strategy for molecular typing of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis clinical isolates from Polandex*. Polish Journal of Microbiology, 2011, volume 60, N° 3, p.233-241.
29. Banu S, Mahmud AM, Rahman T, Hossain A, Uddin MKM, Ahmed T, Khatun R, Akhanda W e Brosch R. *Multi-drug tuberculosis in admitted patients at a tertiary referral hospital of Blangladesh*. PLoS ONE, July 2012, Volume 7, e40545.

30. Worodria W, Anderson J, Cattamanchi A, Davis JL, Boon S, Andama A, Yoo SD, Joloba , Huang L e Kato-Maeda M. *The role of speciation in positive Lowenstein-Jensen culture isolates from a high tuberculosis burden country.* PLoS ONE, Nov 2011, Volume 6, e27017.
31. Lefmann M, Scheiwckert B, Buchholz P, Gobel UF, Ulrichs T, Seiler P, Theegarten D e Moter A. *Evaluation of peptide nucleic acid-fluorescence in situ hybridization for identification of clinically relevant mycobacteria in clinical specimens and tissue sections.* Journal of Clinical Microbiology, Oct 2006, p.3760-3767.
32. Chhabra N, Aseri ML, Dixit R e Gaur S. *Pharmacotherapy for multidrug resistant tuberculosis.* Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics, 2012, volume 3, p.98-104.
33. Hilleman D, Rush-Gerdes S, Boehme C e Richter E. *Rapid molecular detection of extrapulmonary tuberculosis by the automated GeneXpert MTB/RIF system.* Journal of Clinical Microbiology, Apr 2011, p.1202-1205.
34. Kim YK, Uh Y, Lee NS, Cho MY, Eom M e Kim HY. *Whole-blood interferon-gamma release assay for diagnosis of tuberculous lymphadenitis.* Tokohu Journal of Experimental Medicine, 2011, 224, p.182-193.
35. Beyene D, Franken KL, Yamuah L, Aseffa A, Wilker HG, Kolk A, Engers H, Klatser P e Sviland L. *Serodiagnosis of tuberculous lymphadenitis using a combination of antigens.* Journal of Infection in Developing Countries, 2010, 4(2): p.96-102.
36. Samanich K, Belisle J T e Laal S. *Homogeneity of antibody responses in tuberculosis patients.* Infection and Immunity, 2001, 69(7): p.4600-4609.

37. Luo MY, Liu L, Lai L, Dong YX, Liang WW e Qin J. *Deepgoing study on intrathoracic tuberculous lymphadenitis in adults using multidetector CT*. Chinese Medical Journal, 2010, 123(10): p.1283-1288.
38. Navani N, Molyneaux PL, Breen RA, Connel D, Jepson A, Nankivell M, Brown JM, Morris-Jones S, Benjamin Ng, Wickresmasinghe M, Lalvani A, Rintoul RC, Santis G, Min Kon O e Janes SM. *Utility of endobronchial ultrasound-guided transbrochial needle aspiration in patients with tuberculous intrathoracic lymphadenopathy: a multicenter study*. Thorax, Oct 2011, 66(10): p.889-893.
39. Hassan T, McLaughlin AM, O'Connell F, Gibbons N, Nicholson S e Keane J. *EBUS-TBNA Performs well in the diagnosis of isolated thoracic tuberculous lymphadenopathy*. American journal of respiratory and critical care medicine, 2011, volume 183, p.136-137.
40. Medford ARL. *Single bronchoscope combined endoscopic-endobronchial ultrasound-guided fine-needle aspiration for tuberculous mediastinal nodes*. American College of Chest Physicians, 2010, volume 138, p.1274.
41. Van der Werf MJ, Langendam MW, Huitric E e Manissero D. *Multidrug resistance after inappropriate tuberculosis treatment: a meta-analysis*. European Respiratory Journal, volume 39, N° 6, p.1511-1519.
42. Swindells S. *New drugs to treat tuberculosis*. F1000 Reports Medicine, June 2012, 4:12 (doi:10.3410/M4-12).
43. Cho OH, Park KH, Kim T, Song EH, Jang E, Lee EJ, Chong YP, Choi SH, Lee SO, Woo JH, Kim YS e Kim SH. *Paradoxal responses in non-HIV-infected patients with peripheral lymph node tuberculosis*. Journal of Infection, 2009, volume 59, p.56-61.

44. Hawkey CR, Yap T, Pereira J, Moore DA, Davidson RN, Pasvol G, Kon OM, Wall RA e Wilkinson RJ. *Characterization and management of paradoxical upgrading reactions in HIV-uninfected patients with lymph node tuberculosis*. *Clinical Infectious Disease*, 2005, 40: p.1368-1371.
45. Blackmore TK, Manning L, Taylor WJ e Wallis R S. *Therapeutic use of infliximab in tuberculosis to control severe paradoxical reaction of the brain and lymph nodes*. *Clinical Infectious Disease*, 2008, 47: p.83-85.
46. Park IS, Son D, Lee C, Park JE, Lee JS, Cheong MH e Kim YM. *Severe paradoxical reaction requiring tracheostomy in a human immunodeficiency virus (HIV)-negative patient with cervical lymph node tuberculosis*. *Yonsei Medical Journal*, 2008, 49(5): p.853-856.
47. Socio GV, Ricci E, Parruti G, Maggi P, Madeddu G, Quirino T e Bonfanti P. *Post-therapy paradoxal response in immunocompetent patients with lymph node tuberculosis*. *The British Infection Society*, 2010, Letters to the Editor, p. 430-433, doi:10.1016/j.jinf.2010.09.001.
48. Agarwal U, Kumar A, Behera D, French MA, Price P. *Tuberculosis associated immune reconstitution inflammatory syndrome in patients infected with HIV: meningitis a potentially life threatening manifestation*. *AIDS Research and Therapy*, 2012, 9:17, doi:10.1186/1742-6405-9-17.
49. McShane H. *Tuberculosis vaccines: beyond bacilli Calmette-Guérin*. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 2011, volume 366, p.2782-2789.