

ALEXANDRE MEDEIROS DO CARMO

**Avaliação da infecção pelo citomegalovírus em
pacientes com doença inflamatória intestinal**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para a obtenção do
título de Mestre em Ciências

Programa de Ciências em Gastroenterologia

Orientador: Prof. Dr. Aytan Miranda Sipahi

São Paulo

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Carmo, Alexandre Medeiros do

Avaliação da infecção pelo citomegalovírus em pacientes com doença
inflamatória intestinal / Alexandre Medeiros do Carmo. -- São Paulo, 2013.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências em Gastroenterologia.

Orientador: Aytan Miranda Sipahi.

Descritores: 1.Doenças inflamatórias intestinais 2.Citomegalovírus 3.Doença
de Crohn 4.Retocolite ulcerativa 5.Reação em cadeia da polimerase

USP/FM/DBD-429/13

Este trabalho foi realizado no Ambulatório do Grupo de Intestino do Serviço de Gastroenterologia Clínica e no Ambulatório de Doenças Inflamatórias Intestinais do Serviço de Cirurgia do Cólon, Reto e Ânus, do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) e no Laboratório de Gastroenterologia Clínica e Experimental LIM 07 HC-FMUSP, com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP): Projeto 2010/18275-8.

Dedicatória

À minha grande família, minha força maior, meu alicerce,
meu chão.

À minha esposa Marcela, meu estímulo ao mundo científico,
por todo amor, apoio, compreensão e exemplo de mãe.

Ao meu pai, exemplo de superação, integridade e retidão.

À minha mãe, que me ensina a enxergar com o coração e
amar com a alma.

Agradecimentos

Recordando o início desta trajetória, lembranças, sentimentos e imagens passam através da mente, evocando um começo incerto, repleto de dúvidas e inquietudes em conhecer um mundo novo, conviver com pessoas diferentes, e ainda mais, um cirurgião ser aceito por um grupo de clínicos.

Participar do Ambulatório do Grupo de Intestino da Gastroenterologia Clínica foi um grande aprendizado. Conviver com a forma de pensar dos gastroclínicos foi uma forma de entender ainda mais o paciente com doença inflamatória intestinal. Na verdade, o receio da aceitação se tornou um desejo de aprender mais e mais. O corrido ambulatório, a convivência com Dr. Aytan, Dr. André e os residentes forneceram, para um coloproctologista, uma bagagem prática e científica incalculável.

O LIM 07, também, foi local onde minhas dúvidas de como seria o relacionamento se transformaram em uma prazerosa convivência. Onde o dia a dia com pessoas tão diferentes e únicas me fez ampliar o campo visual, na ciência e no relacionamento humano.

O Ambulatório de Doenças Inflamatórias Intestinais do Grupo do Cólon Reto e Ânus, já era uma terra conhecida. Foi muito bom poder participar, durante cinco anos, deste ambulatório, atender pacientes já conhecidos e transpor a marca de 2200 pacientes cadastrados. Em nenhum lugar do mundo existe tamanha riqueza de dados e informações.

Desta forma, agradeço ao meu orientador Dr. Aytan Miranda Sipahi, pelas ideias, paciência em explicar para um cirurgião, por sua perene curiosidade às inovações médicas e diagnósticos difíceis, doação à medicina, além de ter me proporcionado conhecer parte de sua enorme bagagem política e histórica. Este

aprendizado e as conversas informais serão de grande valia para minha vida médica e pessoal.

Agradeço ao Dr. André Zonetti de Arruda Leite pelas orientações, disponibilidade, apoio e ajuda frequente no manejo dos pacientes, dúvidas clínicas e outras de natureza científica.

À turma do LIM 07 tenho muito a agradecer também. Fabiana Maria Santos, obrigado pela paciência em explicar o funcionamento de tudo, pelas dicas no projeto e na PCR. Carmen Lúcia Ortiz-Agostinho, paciência e detalhes são termos que sempre me farão lembrar você. Fabi, Carmensita e Iêda Nishitokukado, sem vocês a bancada seria impossível. Iedinha, muito obrigado. Cida, muito obrigado pelas idas e vindas. Jú e Fernandinha, colegas da pós-graduação, obrigado pela amizade e ajuda nesta trajetória. Cíntia e Flávia, alunas de iniciação científica, não tenho palavras para agradecer a imensa ajuda que vocês me deram, nossas tabelas e fichas terão sempre a cara de vocês. A toda a família LIM 07, meu muito obrigado pelo carinho, disponibilidade, dicas e amizade.

Dr. Arceu Scanavini e Dr Edesio Vieira S. Filho, obrigado pela ajuda, orientações e parceria. Edésio, suas palavras e ensinamentos lembrarei onde estiver.

Agradeço ao Márcio, que muito me ajudou com a análise estatística junto ao Laboratório de Estatística e Epidemiologia.

Meire e Viviane, sem vocês os ambulatórios seriam um caos. O êxito do trabalho se deve muito da ajuda de vocês, na orientação dos pacientes, obrigado.

Professor Dr. Claudio Sérgio Pannuti, obrigado pela disponibilidade para nossas conversas e reuniões, sugestões e tentativa exaustiva em tentar desvendar o citomegalovírus para um cirurgião, além de dispor o LIM 52 como parceiro neste estudo. Além de permitir a grande ajuda da Lucy Vilas Boas com as PCRs, e a discussão epidemiológica com o Dr. Expedito Luna, que foi de grande ajuda na elaboração do projeto.

Ademais, toda esta trajetória se deve a semente plantada pela Dra. Magaly Gemio Teixeira quando discutimos pela primeira vez a realização de uma pós-

graduação. Devo à ela a oportunidade de realizar este trabalho com o Dr. Aytan. Durante toda a minha formação coloproctológica e durante o trabalho, ela foi uma personalidade sempre presente; orientando, corrigindo, apoiando e discutindo. Foi muito mais do que uma coorientadora. Sua ajuda, na minha formação, é imensurável e palavras nunca conseguiriam demonstrar minha gratidão e admiração.

Agradeço ao professor Vianney Mesquita, que conjuntamente com meu pai e a Carmen corrigiram esta tese tentando melhorar a ortografia.

Aos pacientes, que são a maior fonte de ensinamentos e de inspiração para a pesquisa, sem os quais essa dissertação não teria razão, agradeço a colaboração e confiança.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro.

Agradeço aos meus pais pelo amor, pela educação, e por não medirem esforços em proporcionar o melhor para mim e minhas irmãs. À minha avó que com sua enorme sabedoria, sempre soube, de forma disfarçada, orientar e aconselhar para seguir o melhor caminho. As minhas irmãs que sempre me apoiam e me impulsionam para ultrapassar meus limites.

À Marcela, minha esposa e companheira; minha parceira em dividir meus questionamentos, dúvidas e inquietudes no que realmente vale a pena. Sua participação extrapola o plano curricular, seu exemplo de pesquisadora e estudiosa me incentivaram a seguir um rumo inimaginável em meus planos e sonhos.

Por fim, agradeço a Deus, por tantas alegrias na minha vida e, por sempre me proporcionar serenidade e fortaleza para enfrentar as dificuldades.

Epígrafe

“Valeu a pena?”

Tudo vale a pena se a alma não é pequena.”

Fernando Pessoa

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado do *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de Apresentação de Dissertações, Teses e Monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	O citomegalovírus	2
1.2	As doenças inflamatórias intestinais	5
1.3	Métodos diagnósticos para detectar a infecção pelo CMV	8
1.4	A doença inflamatória intestinal e o citomegalovírus	10
2	OBJETIVOS	14
3	MÉTODOS	16
3.1	Considerações éticas	17
3.2	Casuística	17
3.3	Análise laboratorial	19
3.4	Análise molecular das amostras sanguíneas	19
3.5	Análise do material fecal	20
3.6	Análise por PCR nas fezes	21
3.7	Análise estatística	22
4	RESULTADOS	23
4.1	Descrição da casuística	24
4.2	Análise laboratorial	28
4.3	Análise estatística	32
5	DISCUSSÃO	38
6	CONCLUSÕES	44
7	REFERÊNCIAS	46
8	ANEXOS	58

Listas

Lista de Abreviaturas e Siglas

ADA	Adalimumabe
BX	Biopsia
CMV	Citomegalovírus
CMVD	Doença pelo citomegalovírus
DC	Doença de Crohn
DII	Doença inflamatória intestinal
DNA	Ácido desoxirribonucleico
HC FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HE	Hematoxilina-eosina
IADC	Índice de atividade da doença de Crohn
ICH	Imunoistoquímica
IFX	Infliximabe
IMC	Índice de massa corpórea
LEE	Laboratório de Epidemiologia e Estatística
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RCU	Retocolite ulcerativa
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGI	Trato gastrointestinal
TNF	Fator de necrose tumoral
VHS	Velocidade de hemossedimentação

Lista de Figuras

GRÁFICO 1- Distribuição do IMC em pacientes com DC e com RCU	25
GRÁFICO 2 - Tratamento com azatioprina isolada <i>versus</i> azatioprina associada à terapia biológica em pacientes com DC e em pacientes com RCU.....	27
FIGURA 1- Foto do gel de agarose 1,5 %, <i>ladder</i> 100pb, coloração com brometo de etídio.....	30

Lista de Tabelas

TABELA 1 - Estudos de prevalência da CMVD de acordo com a população e metodologia do estudo	13
TABELA 2 - Distribuição dos pacientes com DII, segundo as características demográficas	24
TABELA 3 - Distribuição dos pacientes com DC e RCU, segundo o tratamento clínico.....	27
TABELA 4 - Distribuição dos valores da calprotectina fecal nos pacientes com DII	28
TABELA 5 - Distribuição da sorologia para CMV nos pacientes com DC e RCU	29
TABELA 6 - Distribuição da análise do DNA do CMV por pesquisa de PCR nas fezes dos pacientes com DII.....	30
TABELA 7 - Distribuição dos pacientes com DII, considerando a infecção pelo CMV	31
TABELA 8 – Descrição dos grupos de infecção por CMV, segundo características de interesse nos pacientes com DC e resultados dos testes de associação	34
TABELA 9 - Descrição dos grupos de infecção por CMV, segundo características de interesse nos pacientes com RCU e resultados dos testes de associação	35
TABELA 10 - Descrição dos grupos de infecção por CMV, segundo características de interesse em todos os pacientes e resultados dos testes de associação	36
TABELA 11 - Resultado do modelo de regressão logística múltipla para explicar a replicação do CMV	37

Resumo

Carmo AM. **Avaliação da infecção pelo citomegalovírus em pacientes com doença inflamatória intestinal** [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

Introdução: Citomegalovírus (CMV) é um DNA vírus de alta prevalência, e tem uma capacidade peculiar de infectar e permanecer integrado ao DNA das células do hospedeiro, mantendo-se na forma de infecção latente. O vírus também pode ocasionar doença, o que normalmente ocorre em pacientes imunocomprometidos, promovendo o aumento da morbidade e mortalidade nestes pacientes. As doenças inflamatórias intestinais (DII), doença de Crohn (DC) e retocolite ulcerativa (RCU), são enfermidades crônicas que afetam o trato gastrointestinal. A fisiopatologia e o tratamento destas doenças, muitas vezes, pode induzir um estado de imunossupressão. Isso incitou a ideia de que os pacientes com DII são mais susceptíveis à infecção e doença por CMV. Ainda há dúvidas e controvérsias sobre a relação entre a doença inflamatória intestinal e o CMV. **Objetivos:** Avaliar a frequência de infecção por CMV em pacientes com doença inflamatória intestinal, e se existe associação entre replicação viral do CMV com a atividade da DII, mediante índices clínicos e laboratoriais. **Metodologia:** Pacientes com DII previamente diagnosticada foram submetidos à entrevista, revisão de registros e coleta de amostras de sangue e fezes. Foram realizados os seguintes exames: pesquisa de citomegalovírus por IgG e IgM no sangue, pela técnica de reação em cadeia por polimerase (PCR) em tempo real no sangue e pela técnica de PCR qualitativa nas fezes. Estes resultados foram correlacionados com os valores de hemoglobina, proteína C-reativa, velocidade de hemossedimentação, calprotectina fecal e índices clínicos. **Resultados:** Quatrocentos pacientes foram elegíveis, sendo 249 com DC e 151 com RCU. No grupo de pacientes com DC, 67 apresentavam doença moderada ou grave pelo índice clínico, porém 126 se mostravam com doença ativa mediante a avaliação da calprotectina fecal. No grupo de pacientes com RCU, 21 exibiam doença moderada pelo índice clínico, mas 76 se encontravam com doença ativa, mediante a avaliação da calprotectina fecal. Drogas imunossupressoras foram amplamente utilizadas pelos pacientes, 143 pacientes com DC faziam uso de azatioprina e, destes, 48 usavam terapia combinada (anti TNF-alfa + azatioprina). Na RCU, a azatioprina foi usada por 41 pacientes e, destes, sete faziam uso de terapia combinada. Avaliando os dois grupos, 90,9% dos pacientes apresentaram anticorpos IgM contra o CMV no sangue e dez pacientes também exibiram IgG. A detecção do DNA CMV PCR em tempo real no sangue apresentou valores abaixo do limite inferior (150 cópias/mL) em todos os 400 pacientes. Enquanto isso, o DNA CMV PCR qualitativo, realizado na amostra fecal, indicou nove pacientes expressando valores positivos. Com efeito, nos 400 pacientes, identificaram-se 332 infectados sem replicação viral, 19 pacientes com replicação viral e 24 não infectados. Os pacientes com DII em uso de terapia combinada apresentaram uma chance maior de

replicação viral 3,63 vezes em comparação aos pacientes que não fizeram uso deste tratamento. **Conclusão:** A infecção latente pelo CMV foi bastante prevalente, mas a infecção ativa foi rara. A utilização de terapia combinada, entretanto, em doentes com DII, tem associação com a replicação viral do CMV, mas sem indicar relação com a atividade inflamatória da DII.

Descritores: 1.Doenças inflamatórias intestinais 2.Citomegalovírus 3.Doença de Crohn 4.Retocolite ulcerativa 5.Reação em cadeia da polimerase

Summary

Carmo AM. **Cytomegalovirus infection evaluation in inflammatory bowel disease patients.** [Dissertation]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2013.

Background: Cytomegalovirus (CMV) is a highly prevalent DNA virus that has a peculiar ability to infect the host and remains integrated to his DNA as a latent infection. The virus can also appear in the form of disease, which most commonly occurs in immunocompromised patients, increasing their morbidity and mortality. Inflammatory bowel diseases (IBD), Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) are chronic diseases that affect the gastrointestinal tract. The pathophysiology and treatment of these diseases often induce a state of immunosuppression, hence the assumption that patients with inflammatory bowel disease may be at greater risk for cytomegalovirus disease. However, there are still doubts and controversies about the relationship between IBD and CMV. **Aim:** Evaluate the frequency of CMV infection in patients with IBD correlating it with clinical and laboratorial activity indices of IBD. **Methods:** Patients with a previous diagnosis of IBD underwent interviews, a medical record review and collection of blood and fecal samples. The search of CMV was performed by IgG and IgM blood serology, real-time PCR in blood and qualitative PCR in feces. These results were correlated with red blood cell levels, C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate and fecal calprotectin. Patients with CD were evaluated by Crohn's disease activity index and UC patients, by Truelove & Witts index. **Results:** Four hundred patients were eligible: 249 patients with CD and 151 with UC. In the CD group, using clinical index, 67 patients had moderate or severe disease, but 126 patients presented with active disease by evaluating fecal calprotectin. In patients with UC, 21 exhibited moderate disease by clinical index, but 76 patients presented with active disease by evaluating fecal calprotectin. Immunosuppressive drugs were widely used by patients. On CD, 143 patients of them were using azathioprine, and of these, 48 were using combo therapy (anti TNF-alpha + azathioprine). On the UC, azathioprine was used in 41 patients, and seven of these were taking combo therapy. The great majority of patients (90,9%) had positive CMV IgG, ten patients had positive CMV IgM, nine patients had positive qualitative detection of CMV DNA by PCR in faeces, and in all 400 patients quantitative detection of CMV DNA by real-time PCR in blood was negative. In the 400 patients, we identified 332 CMV infected without viral replication, 19 patients CMV infected with viral replication (active infection) and 24 non-infected CMV patients. Analyzing the 19 patients with active infection, we only found an association with the use of combo therapy (anti TNF-alpha + azathioprine), and patients on combo therapy have a viral replication chance 3.63 times compared to patients who do not use this treatment. **Conclusion:** Latent cytomegalovirus infection is extremely frequent in the inflammatory bowel disease population, but the active cytomegalovirus infection is rare; and the use of combination therapy in patients with

IBD is associated with viral replication of CMV, but without presenting relation to inflammatory activity of IBD.

Descriptors: 1.Inflammatory bowel disease 2.Cytomegalovirus 3.Crohn's disease
4.Ulcerative colitis 5.Polymerase chain reaction

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 O citomegalovírus

O citomegalovírus (CMV) é um dos mais prevalentes patógenos que afetam o homem ⁽¹⁾. O CMV é um beta herpesvírus humano tipo 5 e membro da família *Herpesviridae* assim como o vírus da Varicela-zoster, vírus do Epstein-Barr, vírus do Herpes simples tipos 1 e 2 e das herpesviroses humanas 6 a 8, e subfamília *Beta-herpesvirinae*. Em comparação com outros herpesvírus humanos, o CMV é considerado o maior. É um DNA vírus e seu genoma é constituído de um centro de DNA linear de cadeia dupla que se encontra no interior de capsídeo icosaédrico, envolvido por uma matriz amorfa proteica, chamada tegumento, envolvida por uma bicamada lipídica de envelopes, onde se encontram as glicoproteínas virais ⁽¹⁻³⁾.

O CMV é contraído pelo contato pessoal íntimo de pessoas, que excretam o vírus em quase todos os líquidos e secreções corporais (saliva, sangue, fezes, sêmen, lágrima, etc.) ⁽²⁾. A infecção primária pode ocorrer no período pré-natal, perinatal, ou pós-natal, tanto por vias naturais como por vias iatrogênicas: mediante a transfusão de sangue ou transplantes de órgãos ⁽¹⁾.

A infecção primária tem um pico bimodal, com o primeiro durante a gestação ou a primeira infância e o segundo durante a vida adulta por meio do contato sexual. Em pessoas imunocompetentes, a primoinfecção é ordinariamente assintomática ou

manifesta-se como um quadro de mononucleose infecciosa símile (febre prolongada, fadiga, linfadenopatia cervical, hepatomegalia e/ou esplenomegalia), que pode evoluir para infecção latente por período bastante variável ou para a doença pelo citomegalovírus (CMVD) ^(1, 3, 4). A infecção pelo citomegalovírus possui a capacidade peculiar, também encontrada em outras doenças virais, que é a do vírus permanecer junto ao DNA das células do hospedeiro, mas sem replicação viral ativa, estabelecendo uma infecção latente persistente, a qual pode ser reativada no decorrer da vida ⁽⁵⁾.

A taxa de infecção latente pelo CMV na população geral é alta. A prevalência sorológica (IgG positiva) em doadores de sangue saudáveis foi em torno de 40% em países desenvolvidos e de 100% em países em desenvolvimento ^(6, 7). No Brasil, a sorologia positiva para o CMV também é bastante alta e ocorre precocemente já no primeiro ano de vida ^(8, 9). Suassuna et al. ⁽⁹⁾ pesquisaram a prevalência sorológica do CMVH em pacientes hospitalizados no Rio de Janeiro, encontrando positividade bastante elevada, variando de 77% (pacientes adolescentes) até 92% (pacientes transplantados). A soroprevalência relacionou-se também com o nível socioeconômico dentro da mesma área geográfica e em São Paulo, as taxas variaram de 65 a 85% ^(1, 9).

No que concerne à infecção pelo CMV, pode-se dividir a população em:

- 1) Grupo não infectado pelo CMV.
- 2) Grupo com infecção latente: o paciente está infectado pelo CMV, mas não apresenta replicação viral nem sintomatologia ou dano tecidual causado pelo vírus.

- 3) Grupo com infecção ativa: o paciente está infectado pelo CMV e existe replicação viral, sem presença de doença clinicamente manifesta nem dano tecidual.
- 4) Grupo com doença pelo CMV (CMVD): o paciente está infectado pelo CMV, apresenta replicação viral, sintomatologia e dano tecidual com a presença do vírus no local afetado ⁽¹⁾.

Dos pacientes que exprimem evidências laboratoriais de replicação viral (infecção ativa) somente uma parte desenvolverá a doença ^(10,11).

A replicação viral do CMV pode ocorrer logo após a infecção primária ou com a reativação da infecção latente. A replicação viral – infecção ativa – pode evoluir para infecção latente ou CMVD, sendo esta última tipicamente vista em situações relacionadas à imunossupressão: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), em transplantados, em pacientes em uso de: glicocorticoides, quimioterápicos e imunossupressores, e em idosos. A CMVD é considerada importante causa de morbidade e mortalidade nestes indivíduos ⁽¹²⁻¹⁴⁾ e, de ordinário, se mostra com o envolvimento de órgãos específicos (olhos, pulmões, sistema nervoso central, fígado, pâncreas e trato gastrointestinal) ^(15, 16).

O envolvimento do trato gastrointestinal foi relatado desde a década de 1950, quando a literatura ainda intitulava a infecção pelo citomegalovírus como doença de inclusão citomegálica. Wyatt et al. ⁽¹⁷⁾ descreveram casos de colite pelo CMV em 1950 e em 1962, Levine et al. ⁽¹⁸⁾ publicaram outros relatos de casos de CMV com acometimento do trato gastrointestinal. Naquela época, considerava-se a doença rara e associada a alguma condição predisponente: doenças hematopoiéticas ou do

sistema reticuloendotelial, desnutrição grave, infecção crônica, terapia com glicocorticoides, drogas citotóxicas, radiação e debilidade clínica. O trato gastrointestinal é um local comum de acometimento pelo CMV, com preferência ao esôfago e a mucosa colônica ⁽¹⁹⁾.

1.2 As doenças inflamatórias intestinais

As doenças inflamatórias intestinais (DII) são um grupo de doenças inflamatórias crônicas que acometem o trato digestório. A doença de Crohn (DC) e a retocolite ulcerativa (RCU) são exemplos de DII que se diferenciam, principalmente, pela profundidade e extensão do acometimento. A DC é uma doença granulomatosa e acomete todas as camadas da parede intestinal, podendo trazer comprometimento universal do trato digestório, enquanto a RCU acomete o intestino grosso e somente mucosa e submucosa ⁽²⁰⁾.

A etiologia das DII ainda não é completamente elucidada. A hipótese mais aceita sugere que a inter-relação dos fatores ambientais, a resposta imune exagerada de indivíduos geneticamente predispostos e a microflora bacteriana residente na mucosa do sistema digestivo levariam à exacerbação do processo inflamatório intestinal. Os vírus, no entanto, têm um papel ainda obscuro na patogênese da DII ⁽²¹⁾.

Em razão da própria fisiopatologia e dos fatores associados, na DII ocorrem: diminuição da ingesta por alterações no apetite; má absorção intestinal; aumento das perdas entéricas de proteínas; anemia ferropriva (por sangramentos digestivos e

alteração da absorção de ferro), bem como deficiência de macro e micronutrientes. Todas estas alterações conduzem à desnutrição proteico-calórica e interferem na imunidade desses pacientes.

O tratamento é geralmente feito com drogas imunossupressoras: glicocorticoides, agentes citotóxicos (azatioprina, 6-mercaptopurina, ciclosporina) e terapia biológica com antifator de necrose tumoral alfa (anti TNF- α) (infliximabe, adalimumabe) que são geralmente efetivos no controle clínico e endoscópico da doença, tentando assim evitar a recidiva e complicações das DII. Contudo, períodos de remissão e recaídas, em virtude da exacerbação do processo inflamatório - mesmo em vigência de tratamento - são características das DII. Investigar o grau de atividade inflamatória é fundamental para avaliar a atividade da doença e adequar a terapêutica clínica e cirúrgica^(22, 23).

A sintomatologia dos pacientes é subjetiva e influenciável por doenças associadas e outros fatores^(23, 24). Por isso, a avaliação da inflamação depende de uma combinação de parâmetros clínicos, laboratoriais, endoscópicos e radiológicos⁽²⁵⁾.

Na tentativa de melhor quantificar o grau de atividade inflamatória, vários índices clínicos, endoscópicos, radiológicos e outros, com a mescla de mais de um destes critérios, são utilizados^(26, 27). Para a DC, o índice clínico laboratorial mais empregado é o índice de atividade da doença de Crohn (IADC), do inglês CDAI (*Crohn's Disease Activity Index*), o qual avalia oito variáveis utilizando uma marcação que varia de 0 a 600 pontos. Neste índice, pacientes que denotam até 150 pontos são categorizados como em remissão clínica, de 150 a 219 como doença ativa leve, de 220 a 450, doença moderada, e acima de 450 como doença grave⁽²⁸⁾. Na

RCU, o índice de TrueLove e Witts ⁽²⁹⁾ é um dos mais utilizados e, de forma semelhante ao IADC, avalia seis variáveis e categoriza em uma escala de três graus: leve (6 a 8), moderada (9 a 15) e grave (>15).

Certamente, o melhor seria avaliar todos os pacientes por meio de critérios clínicos, endoscópicos, radiológicos e histológicos, porém a realização de todos estes critérios para todos os pacientes seria impraticável; em razão do custo, da dificuldade técnica, da demora, dos riscos e eventuais complicações. Por isto, na maioria dos estudos, se utilizam critérios clínico-laboratoriais. Estes índices clínicos de atividade da DC e da RCU, contudo, dão apenas avaliações indiretas de atividade da doença e mostram limitações, sendo imprecisos e questionados quando comparados com exames endoscópicos ^(22, 30).

Na busca de melhor marcador de atividade inflamatória, surgiram os biomarcadores fecais, como a calprotectina fecal. A calprotectina é uma proteína com ligação de cálcio e zinco, com propriedades antimicrobianas e é principalmente encontrada nos citoplasmas dos neutrófilos, e em menor quantidade dos monócitos e macrófagos ativados. A concentração da calprotectina é proporcional ao influxo dos neutrófilos pelo trato gastrointestinal, ou seja, sua concentração nas fezes é uma medida indireta da infiltração de neutrófilos na mucosa intestinal, que é uma característica da DII em atividade, ou seja, o aumento do processo inflamatório na mucosa intestinal faz crescer os níveis da calprotectina nas fezes ⁽³¹⁻³⁵⁾.

A calprotectina fecal é um exame mais simples, mais barato, não invasivo (comparativamente ao exame endoscópico). A calprotectina é encontrada nas fezes com uma concentração seis vezes maior do que no plasma, e tem uma grande estabilidade e por um longo período. Expressam uma estreita correlação com o

exame endoscópico e histológico, e melhor sensibilidade e especificidade quando comparada aos índices clínicos ^(31, 32). É um ótimo marcador para diferenciar DII de outras patologias, estabelecer diferença entre doenças ativa e em remissão, avaliar a cicatrização da mucosa e prever recaída clínica e resposta à terapia utilizada ⁽³³⁾.

1.3 Métodos diagnósticos para detectar a infecção pelo CMV

A escolha do método diagnóstico para detectar o CMV ou seus constituintes deve ser feita de acordo com o propósito do estudo, haja vista a grande variabilidade nas propriedades diagnósticas de cada método, bem como do grau de dificuldade e custo na realização do exame; e devem ser criteriosamente avaliados, interpretados e individualizados, principalmente quando se pretende associar o CMV a algum tipo de patologia. Os diferentes métodos mais utilizados são: diagnóstico sorológico, antigenemia, exame histológico, imunistoquímica, cultura viral e reação em cadeia por polimerase (PCR).

O **diagnóstico sorológico** é realizado pela detecção dos anticorpos produzidos contra o CMV no sangue. As detecções de IgG e IgM são interessantes para excluir infecção pelo CMV e detectar os indivíduos não infectados (IgM e IgG negativos), mas não se prestam para diferenciar CMVD e infecção latente. A presença de anticorpos de classe IgM reflete replicação viral atual ou recente, mas seus valores podem demorar até 12 meses para se tornarem negativos ⁽¹⁰⁾.

A **antigenemia**, detecção imunocitoquímica direta do antígeno pp65 em leucócitos do sangue periférico, mostra boa sensibilidade (60-100%) e especificidade (83-100%), porém, a presença do antígeno no sangue circulante nem sempre é

acompanhada pela detecção do CMV nos tecidos acometidos, nos pacientes com DII e, por isso, sua positividade não significa CMVD ^(10, 36-38).

O **exame histológico** permite a detecção do CMV por meio da biopsia do tecido acometido ou da peça cirúrgica. Utilizando a coloração hematoxilina-eosina (HE), costuma-se evidenciar células volumosas, com núcleos grandes, pleomórficos, com grandes inclusões eosinofílicas, algumas vezes envoltas por um halo claro e inclusões menores. A detecção dos corpúsculos de inclusão, que exprimem uma aparência de olho de coruja (*owl's eye*) ⁽⁵⁾, é um método bastante específico (92-100%), mas pouco sensível (10-87%) ⁽¹⁰⁾.

A **imunoistoquímica** (ICH) localiza antígenos específicos do CMV em tecidos, baseada na reação antígeno-anticorpo. Este exame melhora a sensibilidade histológica (78-93%) ⁽³⁹⁾. É boa opção para determinar o envolvimento tecidual pelo CMV. Juntamente com o exame histológico, sua positividade na biopsia intestinal sugere enterocolite pelo CMV, ou seja, CMVD.

A **cultura viral** era considerada como o teste padrão ouro na detecção do CMV, pois encerra uma alta especificidade (89-100%). Possui, no entanto, baixa sensibilidade (45-78%), não quantifica o nível de viremia nem correlaciona-se com a atividade da doença enterocólica, além de o tempo despendido para sua execução ser bastante longo (até quatro semanas no isolamento viral clássico e de 24-72h nas técnicas mais novas – *shell-vial*). Acresce dizer, também, que não estar disponível na maioria dos centros ⁽¹⁰⁾.

A técnica de **reação em cadeia da polimerase** (PCR) promove a amplificação seletiva de sequências específicas de ácido nucleico, permitindo a

detecção do DNA viral, mesmo em amostras com pequeno número de cópias virais. É uma técnica rápida, com sensibilidade de 65-100% e especificidade de 40-92%^(5, 10, 37, 40). A PCR permite utilizar a técnica qualitativa, onde se pesquisa a presença do vírus ou a técnica quantitativa (PCR em tempo real), que possibilita investigar a carga viral^(10, 41). A técnica de PCR pode ser realizada com base em amostras de sangue periférico (leucócitos), de biopsia entérica ou colônica e até de fezes. A PCR quantitativa no sangue e a PCR nas fezes exprimem boa correlação com a detecção no tecido colônico por histologia e imuno-histoquímica^(5, 7, 10, 42).

1.4 A doença inflamatória intestinal e o citomegalovírus

Os pacientes com DII podem exprimir comprometimento do sistema imunológico, tanto relacionado à doença de *per se*, quanto secundário aos tratamentos. O próprio processo inflamatório da DII pode ser um fator predisponente para o CMV, pois o CMV possui tropismo por células em proliferação nos tecidos de granulação. Por isso, teoricamente, pode considerar-se que este grupo de pacientes possui risco maior para doença pelo CMV^(4, 43-45).

Com efeito, vários estudos tentam correlacionar DII e CMV, demonstrando maior prevalência na detecção do CMV em tecido intestinal de pacientes com DII em relação aos pacientes do grupo-controle (pacientes com câncer, pacientes em investigação por anemia) e maior prevalência de CMVD em pacientes com RCU em relação aos pacientes com DC^(38, 46-48).

Outros trabalhos sugerem que o CMV pode provocar piora clínica do processo inflamatório intestinal nos pacientes com DII. Kambham et al.⁽⁴⁹⁾ sugerem

associação de infecção pelo CMV em pacientes com RCU refratários ao tratamento com glicocorticoides, sugerindo a pesquisa do CMV de rotina e o tratamento para o CMV quando positivo. Kishore et al. ⁽⁵⁰⁾ relatam maior necessidade de tratamento cirúrgico nos pacientes com DII associada ao CMV.

Com a utilização da terapia biológica e evidências do aumento do risco de reativação de infecções latentes com este tipo de tratamento, principalmente a tuberculose, surgiram questionamentos sobre o impacto do uso desses medicamentos e a reativação de outras infecções ^(44, 51, 52). Dois relatos de casos descreveram a disseminação da CMVD em pacientes tratados com infliximabe com evolução desfavorável ^(53, 54).

Ainda em relação ao tratamento com terapia biológica, alguns autores defendem o argumento de que o tratamento de curto prazo com o anti TNF- α é seguro em relação à ativação de viroses latentes ^(55, 56). Pillet et al. ⁽⁵⁷⁾ sugerem que o tratamento com anti TNF- α pode reduzir o risco de reativação do CMV em pacientes com RCU, pois estudos evidenciam que o TNF- α aumenta a replicação viral *in vitro* ^(58, 59-61).

Pillet et al. ⁽⁵⁷⁾ relatam também que, em razão dos tipos de resposta inflamatória na RCU (principalmente Th2) e na DC (principalmente Th1 e Th17), a resposta ao CMV é diferente, de acordo com o tipo da DII. Na resposta Th1, uma vez que ocorre a produção de interferon- γ pelas células CD4⁺, pode ocorrer a ativação de células T específicas contra CMV, levando a sua eliminação. Isto sugere que a reativação do CMV não teria tanto impacto na DC. Já na resposta Th2 não ocorre este aumento de citocinas que levaria ao controle do CMV, sugerindo que, em

virtude do tipo de resposta inflamatória, poderia existir maior risco de reativação do CMV na RCU ⁽⁵⁷⁾.

Recentemente, estudo com modelo animal para DII comparou dois grupos de camundongos - um não infectado pelo CMV e o outro com CMV latente, e ambos foram induzidos à colite química. Uma resposta inflamatória intestinal exacerbada foi vista nos camundongos com CMV latente em comparação aos camundongos não infectados, sugerindo que a infecção latente por CMV pudesse interferir na imunidade da mucosa e, conseqüentemente, predispor ao agravamento ou à ampliação do processo inflamatório da DII ⁽⁶²⁾.

Outros trabalhos sugerem, no entanto, que o CMV tem papel apenas incidental, representando um espectador inocente em pacientes com DII ^(63, 64). Maconi et al. ⁽⁶⁴⁾ descrevem que, embora o CMV possa ser marcador de gravidade da DII, a infecção não aumenta a morbidade nem a mortalidade nos pacientes com RCU. Matsuoka et al. ⁽³⁶⁾ asseveram que o CMV pode ser frequentemente reativado nos pacientes com RCU, mas a replicação regride sem tratamento antiviral ⁽⁶⁵⁾.

Existem, pois, duas vertentes na literatura sobre a DII e o CMV: os que acreditam que os pacientes com DII estão em maior risco de replicação viral do CMV, de CMVD, e que o vírus pode induzir ou piorar o processo inflamatório intestinal, e os que defendem a prerrogativa do CMV ser apenas um espectador e não ter influência no processo inflamatório ou piora clínica da DII.

Maher et al. ⁽⁴³⁾ recomendam estudos nesta área, com maior número de doentes e separando doentes com RCU e DC. Mariguela et al. ⁽⁴⁸⁾ e Kishore et al. ⁽⁵⁰⁾ sugerem estudos controlados com maior número de doentes. Criscuoli et al. ⁽⁵⁾ relatam que o papel do CMV na DII ainda não está claro e, na sua revisão da

literatura, é observada grande variação da prevalência da CMVD e considerável variação nos métodos diagnósticos utilizados (Tabela 1).

Trabalhos recentes parecem desmistificar a ideia da alta prevalência da CMVD e do papel patogênico do vírus na DII ^(10, 57, 66, 67). Assim, este trabalho se propõe estudar um maior número de pacientes, sejam com DC ou com RCU, avaliando os índices de atividade clínico-laboratorial, a pesquisa da calprotectina fecal e a terapia utilizada, e também investigando o CMV com sorologia no sangue, PCR em tempo real no sangue e PCR qualitativo nas fezes.

Tabela 1- Estudos de prevalência da CMVD de acordo com a população e metodologia do estudo

Autor	População (n)	Método Diagnóstico	Prevalência
Criscuoli et al. ⁽⁶³⁾	colite severa (42)	HE-ICH em bx retal+ antigenemia	21%
Kishore et al. ⁽⁵⁰⁾	colite severa (63)	Sorologia-HE e PCR qualitativo	16%
Wada et al. ⁽⁶⁸⁾	colite severa (47)	Antigenemia	34%
de Saussure et al. ⁽⁶⁹⁾	colite ativa (64)	Sorologia-viremia-antigenemia- HE-ICH	1,5%-6%
Vega et al. ⁽⁷⁰⁾	colite ativa (267)	HE-ICH em bx colónica	3%
Pofelski et al. ⁽⁷¹⁾	colite severa (48)	PCR quantitativo	38% - 60%
Kambhan et al. ⁽⁴⁹⁾	esteroides resistentes (40)	HE-ICH	25%
Papadakis et al. ⁽⁴⁾	esteroides resistentes (1895)	HE	0,5%
Cottone et al. ⁽⁷²⁾	esteroides resistentes (19)	HE-ICH em bx retal +antigenemia	36%
Maconi et al. ⁽⁶⁴⁾	pacientes colectomizados (77)	HE+ICH espécime cirúrgico	22%
Takahashi et al. ⁽⁷³⁾	espécimes cirúrgicas (69)	HE-ICH em bx e espécime cirúrgico	11,5%
Alcalá et al. ⁽⁷⁴⁾	pacientes colectomizados (39)	HE-ICH	18%
Eyre-Brook et al. ⁽⁷⁵⁾	pacientes colectomizados (26)	Microscopia e microscopia eletrônica ICH	11,5%
Cooper et al. ⁽⁷⁶⁾	pacientes colectomizados (46)	HE	13%
Rahbar et al. ⁽⁴⁶⁾	RCU (13) e DC (10)	ICH hibridização <i>in situ</i>	92/100%
Wakefield et al. ⁽⁷⁷⁾	RCU (29) e DC (21)	PCR qualitativo	66/81%

FONTE: Criscuoli et al. ⁽⁵⁾ bx=biópsia, HE=hematoxilina-eosina, ICH=imunoistoquímica

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

1. Avaliar a frequência de infecção pelo CMV em uma população de pacientes com DII, separando por tipo de DII (RCU e DC).
2. Avaliar se existe associação entre a presença de replicação viral do CMV e atividade inflamatória da DII em cada paciente com DC e RCU, avaliada por meio de índices clínicos e laboratoriais.

3 MÉTODOS

3 MÉTODOS

3.1 Considerações éticas

Os autores seguiram a Resolução de número 196/96, do Conselho Nacional de Saúde/MS, respeitando os princípios básicos da Bioética, de autonomia, não maleficência, beneficência e justiça. O estudo foi submetido à Comissão de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) (Protocolo de Pesquisa: nº 0144/11) e aceito, em sessão do dia 11/05/2011, antes do seu início. Todos os pacientes ou responsáveis, após a leitura, preencheram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo A) e concordaram em participar do estudo.

3.2 Casuística

Foram avaliados 400 pacientes, que faziam acompanhamento no Ambulatório do Grupo de Intestino da Gastroenterologia Clínica e/ou no Ambulatório de Doenças Inflamatórias Intestinais do Serviço de Cirurgia do Cólon, Reto e Ânus do Departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), no período de junho de 2011

a agosto de 2012. Os pacientes apresentavam DII, com diagnósticos de RCU ou DC, previamente estabelecidos, mediante critérios clínicos, laboratoriais, endoscópicos, radiológicos e/ou anatomopatológicos⁽⁷⁸⁾.

Todos os pacientes foram comunicados sobre o estudo, por meio de contato telefônico prévio à consulta ambulatorial, e questionados sobre o interesse em dele participar. Foram orientados acerca de como seria desenvolvido o estudo e solicitados a levar no dia da consulta uma amostra de fezes. Na consulta, os pacientes que conduziram a mostra fecal foram novamente esclarecidos quanto à proposta do estudo, com elucidação de dúvidas acaso existentes, sendo a seguir submetidos a uma entrevista para coleta de dados e assinatura do TCLE. Foram obtidos dados baseados na ficha padronizada (Anexo B), assim como dados visando a responder aos índices de atividade de doença, de acordo com a patologia: DC (IADC - Índice da Atividade da Doença de Crohn) (Anexo C)⁽²⁸⁾, e RCU (índice de Truelove e Witts) (Anexo D)⁽²⁹⁾.

Logo após a coleta de dados, os pacientes foram encaminhados ao Laboratório Central do HC-FMUSP, para coleta de sangue venoso e realização de exames laboratoriais no mesmo dia.

Todos os dados coletados dos pacientes foram analisados e confrontados com os indicadores recolhidos da revisão dos seus prontuários. Aqueles que não preencheram os critérios previamente estabelecidos, não assinaram o termo de consentimento, deixaram de coletar exames laboratoriais ou entregar o material fecal foram automaticamente excluídos do estudo.

3.3 Análise laboratorial

Foram extraídas amostras de sangue periférico para realização dos seguintes exames: hemograma completo, velocidade de hemossedimentação, proteína C reativa, alfa-1 glicoproteína ácida e sorologia para CMV (IgG e IgM). Todas estas análises laboratoriais foram realizadas pelo Laboratório Central do HC-FMUSP, utilizando técnicas já padronizadas pelo próprio laboratório.

3.4 Análise molecular das amostras sanguíneas

As amostras de sangue foram encaminhadas ao Laboratório Central, Divisão de Biologia Molecular, onde foi realizada a extração do DNA destas amostras sanguíneas. Um segmento específico do genoma do CMV foi amplificado pela técnica de PCR em tempo real, utilizando o equipamento ABI Prism SDS 7300/7500 (Applied Biosystems®), os *kits* QIAamp DNA Mini - Cat. N° 51306 (Qiagen®), Taqman Universal PCR Master Mix - Cat. N° 4304437 (Applied Biosystems®) e Syber Green Master Mix - Cat. N° 4309155 (Applied Biosystems®). A quantificação do CMV foi obtida utilizando-se uma curva-padrão.

A sequência dos *primers* CMV foram:

CMV JAS R: 5'-GCG TGC TTT TTA GCC TCT GCA - 3'

CMV JAS F: 5'- AAA AGT TTG TGC CCC AAC GGT A - 3'.

A sequência da sonda CMV foi:

5'-FAM - TGA TCG GCG TTA TCG CGT TCT TGA TC - BHQ1-3'.

A sequência dos *primers* RNase P foram:

Rev 5' - TGT TGT GGC TGA TGA ACT ATA AAA GG-3'

Fw 5' - CCA AGT GTG AGG GCT GAA AAG - 3'

A sequência da sonda RNase P foram:

FAM 5'CC CCA GTC TCT GTC AGC ACT CCC TTC-BHQ 1.

Foram utilizadas água reagente tipo SRW, e tampão TE (10mM TRIS HCL pH 8,0 - 1mM EDTA pH 8,0).

Após a realização da PCR em tempo real, amostras de DNA extraídas de 300 pacientes (tomados aleatoriamente dos 400 pacientes) foram analisadas por meio de PCR qualitativa convencional. A mesma técnica qualitativa empregada nas fezes ⁽⁶⁹⁾.

3.5 Análise do material fecal

As amostras de fezes foram mantidas à temperatura de -20° C para posteriormente serem descongeladas e divididas para realização de dois exames: a pesquisa de calprotectina fecal ^(31, 32) e a pesquisa de PCR CMV-DNA ^(42, 79) nas fezes. A pesquisa da calprotectina foi realizada no Laboratório de Gastroenterologia

Clínica e Experimental da FMUSP - LIM 07 pelo método de ELISA, *PhiCal*® (Caproectin Elisa *Kit*), segundo instruções do fabricante. A pesquisa de PCR CMV-DNA foi realizada em conjunto pelo LIM 07 e pelo Laboratório de Virologia da FMUSP - LIM 52. A extração do DNA fecal com *Kit* da Qiagen® (*QIAamp DNA stool Mini Kit*) foi efetivada no LIM 07. O material genético extraído foi encaminhado ao LIM 52 para pesquisa de CMV-DNA ⁽⁴²⁾ pela técnica qualitativa já padronizada nesse laboratório.

Todos os resultados dos exames obtidos estão disponíveis eletronicamente pelo Laboratório Central do HC-FMUSP. Os não realizados pelo Laboratório Central foram disponibilizados aos médicos responsáveis de cada ambulatório.

3.6 Análise por PCR nas fezes

Após extração do DNA, a detecção do genoma do citomegalovírus foi feita por meio da técnica de PCR qualitativa, amplificando-se um segmento específico do vírus CMV utilizando *primers* específicos gB 1319 e gB 1604 do gene da glicoproteína B ⁽⁷⁹⁾.

O resultado foi obtido pela presença ou ausência de banda no segmento esperado na eletroforese do DNA em gel de agarose marcado com brometo de etídio. Foram realizados em paralelo: controle interno, controles negativos e positivos para avaliação do funcionamento adequado da reação.

3.7 Análise estatística

A análise estatística foi realizada em conjunto com o Laboratório de Estatística e Epidemiologia (LEE) do Departamento de Ciências em Gastroenterologia da FMUSP. Inicialmente, por meio de análises descritivas, seguidas pelo teste de Fisher, teste de Mahn-Whitney ou t. Em um estudo mais detalhado, considerou-se a utilização da regressão logística simples e múltipla. O nível de significância estatística de 0,05 foi considerado.

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 Descrição da casuística

Dos 400 pacientes estudados, 249 tinham o diagnóstico de DC e 151 de RCU. Foi observada discreta predominância de pacientes do sexo feminino, tanto na DC (136 de 249, 54,62%) como na RCU (87 de 151, 57,62%) (Tabela 2).

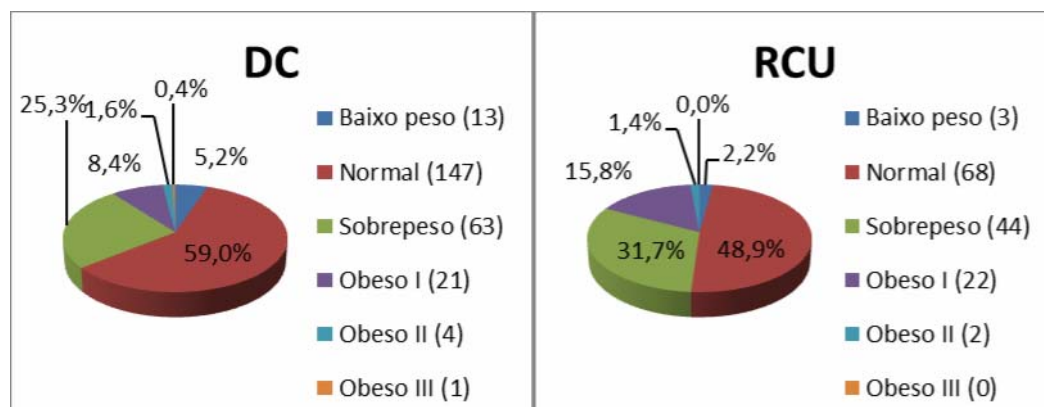
Tabela 2- Distribuição dos pacientes com DII, segundo as características demográficas

Característica	Doença de Crohn	Retocolite ulcerativa
População	249	151
Sexo M:F	113:136	64:87
Varição idade (média)	15-82 (45,5)	23-80 (49,92)
Tempo de doença, meses (média)	12-456 (132,5)	6-576 (118,77)
IMC, kg/m² (média)	15,42-48,05 (24,3)	16,9-37,32 (25,51)
Índice clínico (IADC/TrueLove)		
Quiescente	126 (50,8%)	
Leve	55 (22,18%)	129 (86%)
Moderada	57 (22,98%)	21 (14%)
Grave	10 (4%)	0
Localização da doença		
	íleo 64 (25,7%)	distal 50 (33,11%)
	cólon 65 (26,1%)	cólon esquerdo 41 (27,15%)
	ileocolônica 108 (43,37%)	pancolônica 60 (39,74%)
	TGI superior 12 (4,82%)	
Cirurgia prévia	100/247 (40,49%)	15/151 (9,9%)

A variação da idade dos pacientes com DC foi de 15 a 82 anos, com mediana de 47 anos de idade. Na RCU, a variação de idade foi de 23 a 80 anos, sendo de 48 anos a mediana. No grupo de DC, os pacientes tinham pelo menos 12 meses de tempo de doença, com variação de 12 a 456 meses, e a mediana de 120 meses. No grupo de RCU, a variação da duração da doença foi de seis meses a 576 meses, com mediana de 96 meses.

Quanto ao índice de massa corpórea (IMC) dos pacientes, evidenciou-se ampla variação: 15,42 a 48,05 kg/m² na DC (mediana de 23,52 kg/m²), e 16,90 a 37,32 kg/m² na RCU (mediana de 24,8 kg/m²). Categorizando os pacientes em relação ao IMC, segundo a Organização Mundial da Saúde (80), foram encontrados, na DC 13 (5,22%), pacientes com baixo peso (IMC < 18,5 kg/m²), 147 (59,04%) pacientes com peso normal (18,5 ≤ IMC < 25 kg/m²) e 89 (35,74%) com sobrepeso ou obesidade (IMC ≥ 25 kg/m²). Na RCU, de 139 pacientes, apenas três (2,16%) com baixo peso, 68 (48,92%) pacientes com peso normal e 68 pacientes com sobrepeso ou obesidade (Gráfico 1).

Gráfico 1- Distribuição do IMC em pacientes com DC e com RCU



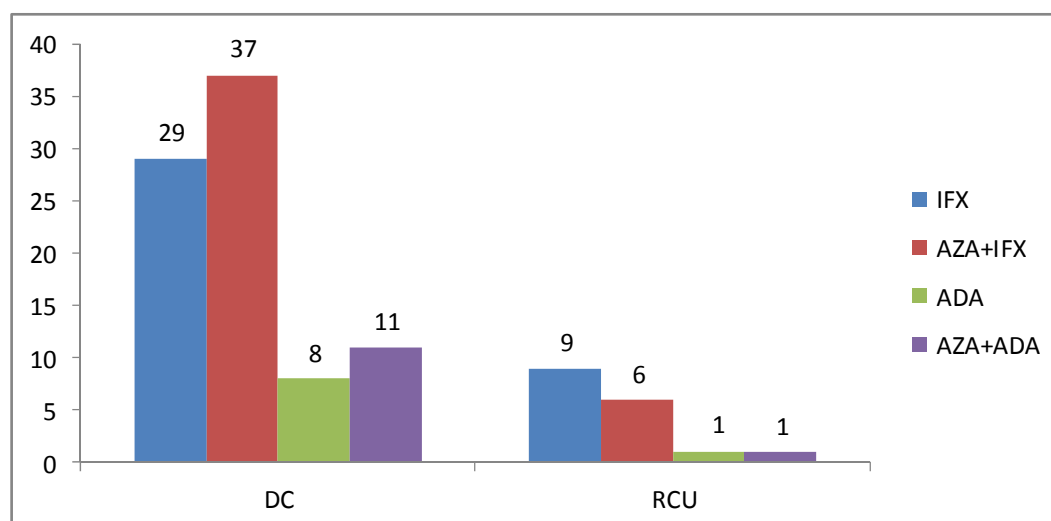
A maior parte dos pacientes tinha doença quiescente, 50,8% no grupo de DC e leve, 86% no grupo de RCU, quando avaliados pelos questionários de índices de atividade de DII, IADC e TrueLove e Witts. Doença grave foi identificada em apenas dez (4%) dos pacientes no grupo de DC e em nenhum caso nos pacientes com RCU.

Quanto à localização da DII, os pacientes com DC exibiam um predomínio de acometimento íleo colônico (108 pacientes, 43,37%); seguido de comprometimento de cólon (65 pacientes, 26,10%), comprometimento de íleo (64 pacientes, 25,70%) e acometimento do trato gastrointestinal (TGI) superior (12 pacientes, 4,82%). Na RCU, houve um predomínio de acometimento universal (60 pacientes, 39,74%); seguido do acometimento distal (50 pacientes, 33,11%) e do acometimento do cólon esquerdo (41 pacientes, 27,15%).

Em relação ao tratamento cirúrgico abdominal para a DII, evidenciou-se um número expressivo de pacientes operados no grupo de DC (100 pacientes de 247, 40,49%). Enquanto isso, na RCU, apenas 15 pacientes (9,9%) haviam sido operados em decorrência da DII. Em relação ao tratamento clínico na DC, 39 (15,73%) pacientes usavam sulfassalazina, 55 (22,18%) mesalazina, 143 (57,66%) azatioprina, 23 (9,27%) corticoide oral, 66 (26,61%) infliximabe (IFX) e 19 (7,66%) adalimumabe (ADA), sendo que 48 deles faziam terapia combinada de azatioprina com anti-TNF- α , e 22 (8,87%) não usavam medicamentos para DII. Dos 150 pacientes com RCU, 70 (46,67%) usavam sulfassalazina, 68 (45,33%) mesalazina, três (2,0%) mesalazina supositório, 41 (27,33%) azatioprina, nove (6,0%) corticoide oral, 17 (11,33%) anti-TNF- α e 13 (8,67%) pacientes estavam sem medicações para DII (Tabela 3) (Gráfico 2).

Tabela 3- Distribuição dos pacientes com DC e RCU, segundo o tratamento clínico

Droga	Doença de Crohn	Retocolite Ulcerativa
Sulfassalazina	39 (15,73%)	70 (46,67%)
Mesalazina	55 (22,18%)	68 (45,33%)
Mesa. Supositório	0	3 (2,0%)
Azatioprina	143 (57,66%)	41 (27,33%)
Corticoide oral	23 (9,27%)	9 (6,0%)
Metotrexato	1 (0,4%)	0
Infliximabe	66 (26,61%)	15 (10,0%)
Adalimumabe	19 (7,66%)	2 (1,33%)
Ciprofloxacina	37 (14,92%)	10 (6,67%)
Metronidazol	23 (9,27%)	7 (4,67%)
Ciclosporina	0	1 (0,67%)
Sem medicação	22 (8,87%)	13 (8,67%)
Total de pacientes	248	150

Gráfico 2- Tratamento com azatioprina isolada *versus* azatioprina associada à terapia biológica em pacientes com DC e em pacientes com RCU

4.2 Análise laboratorial

A maioria dos pacientes, em ambos os grupos, apresentaram calprotectina fecal com valores acima de 150 ng/ml: em 126 (50,6%) de 249 com DC e em 76 (50,7%) de 150 com RCU, evidenciando DII em atividade (Tabela 4).

Tabela 4- Distribuição dos valores da calprotectina fecal nos pacientes com DII

Calprotectina	Doença de Crohn	Retocolite ulcerativa
< 150	123 (49,4%)	74 (49,33%)
≥ 150	126 (50,6%)	76 (50,67%)
Valor mínimo	0	0
Valor máximo	82.240	36.639,76
Média	577,60	564,14
Mediana	157,40	157,54
Total Pacientes	249	150

Os pacientes com DC apresentaram variações de hemoglobina de 6,4 - 17,6 g/dL; considerando que a anemia é representada com o resultado da hemoglobina inferior a 13 g/dL em homens e inferior a 12 g/dL em mulheres, 56 (22,49%) pacientes exibiam anemia. Os pacientes com RCU registraram variação de 8,7 - 17,4 g/dL e 28 (18,54%) pacientes com anemia.

Noventa e dois de 244 pacientes (37,7%) com DC apresentaram a proteína C reativa elevada, ≥ 5 mg/L, sendo que a variação destes pacientes oscilou entre 0,1 - 159,7 g/dL. Os 149 pacientes com RCU exibiram variação de 8,7 - 17,4 g/dL e 56 pacientes (37,58%) tiveram proteína C reativa elevada.

A sorologia IgG para CMV foi positiva em 213 (93,01%) de 229 pacientes com DC e em 135 (94,41%) de 143 pacientes com RCU. Já ambas as sorologias IgG e IgM positivas foram evidenciadas em seis (2,62%) casos na DC e em quatro (2,8%) na RCU. Ambas as sorologias negativas, IgG e IgM, ou seja, os pacientes não infectados pelo CMV foram encontrados em 16 (6,99%) com DC e oito (5,59%) com RCU (Tabela 5).

Tabela 5- Distribuição da sorologia para CMV nos pacientes com DC e RCU

Sorologia	DC	RCU	Total
IgG (-) IgM (-)	16 (6,99%)	8 (5,59%)	24 (6,45%)
IgG (+) IgM (-)	207 (90,39%)	131 (91,6%)	338 (90,86%)
IgG (+) IgM (+)	6 (2,62%)	4 (2,8%)	10 (2,69%)
IgG (-) IgM (+)	0	0	0
Não realizaram exame	20	8	28
Realizaram exame	229	143	372

A detecção quantitativa do DNA do CMV por PCR em tempo real no sangue apontou valores abaixo do limite inferior de detecção (150 cópias/mL) em todos os pacientes, ou seja, os 400 resultados foram negativos. Em vista deste resultado, resolvemos realizar uma segunda análise em 300 amostras de sangue, destes, tomadas aleatoriamente, em outro laboratório, através da detecção qualitativa do DNA do CMV por PCR, que confirmou o resultado negativo nestas 300 amostras.

No grupo de pacientes com DC, cinco apresentaram a detecção qualitativa do CMV por PCR nas fezes e quatro no grupo com RCU. Não foi possível realizar esta análise em seis pacientes do grupo total por dificuldades no processamento das amostras (Figura 1) (Tabela 6).

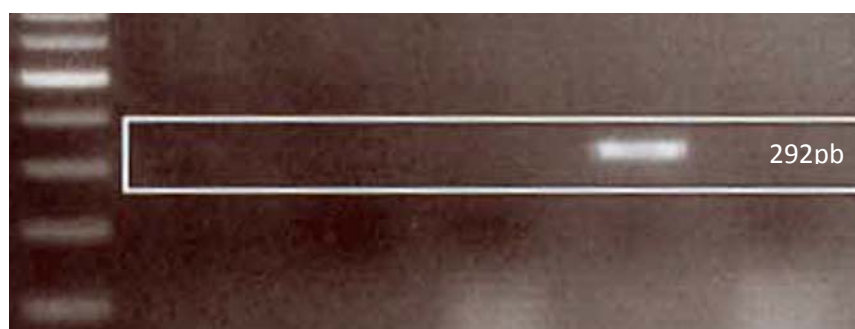


Figura 1- Corrida em gel de agarose 1,5 %, *ladder* 100pb, coloração com brometo de etídio

Tabela 6- Distribuição da análise do DNA do CMV por pesquisa de PCR nas fezes dos pacientes com DII

PCR nas fezes	DC	RCU	Total
(+)	5 (2,01%)	4 (2,65%)	9 (2,25%)
(-)	239 (95,98%)	146 (96,69%)	385 (96,25%)
Não realizaram exame	5 (2,01%)	1 (0,66%)	6 (1,5%)

Pode-se considerar que os pacientes que exibiram a sorologia IgM positiva para CMV e/ou PCR nas fezes ou no sangue positivos estão em replicação viral. Desta forma, encontramos 11 deles no grupo de DC e oito no grupo de RCU em replicação do CMV (Tabela 7).

Tabela 7- Distribuição dos pacientes com DII, considerando a infecção pelo CMV

	DC	RCU	Total
Não infectados	16 (6,42%)	8 (5,3%)	24 (6%)
Infectados sem replicação viral (infecção latente)	204 (81,93%)	128 (84,77%)	332 (83%)
Infectados com replicação (infecção ativa)	11 (4,42%)	8 (5,3%)	19 (4,75%)
Não realizaram exame	18 (7,23%)	7 (4,63%)	25 (6,25%)

4.3 Análise estatística

Usando de teste de razão de verossimilhanças ou qui-quadrado, exatos de Fisher, e estimando os OR com os respectivos intervalos com 95% de confiança, qui-quadrado para estimar a associação de variáveis, encontrou-se associação entre resultados positivos da calprotectina fecal ($\geq 150\text{ng/ml}$), com valores positivos de PCR e com anemia (hemoglobina <13 em homens e <12 em mulheres). A associação da calprotectina fecal com os índices clínicos (IADC e TrueLove) não obteve significância estatística.

Os pacientes foram classificados em grupo quanto a infecção pelo CMV: não infectados, infecção latente e infectados em replicação viral. Posteriormente, verificou-se nestes grupos a existência de associação entre as variáveis de interesse, utilizando os mesmos testes discutidos anteriormente, para estimar a associação das características com os pacientes infectados com replicação. Estas análises foram realizadas tanto para pacientes com DC, RCU e em ambas as patologias em conjunto.

Ao se examinar o grupo de pacientes com DC em uso de infliximabe, evidencio se uma maior frequência de infecção com replicação viral do CMV e, conseqüentemente, menor frequência de não infecção; e também que o uso da terapia combinada (anti TNF-alfa + imunossupressor) mostra associação com a replicação viral, ambos com significância estatística ($p = 0,0045$ e $p=0,005$, respectivamente) (Tabela 8).

Quando analisados os pacientes com RCU, tornou se evidente que nenhuma das características avaliadas demonstrou associação estatisticamente significativa

com os grupos de infecção por citomegalovírus nos pacientes com RCU ($p > 0,05$) (Tabela 9).

Ao analisar os pacientes com qualquer DII, ou seja, aqueles com DC ou RCU, realizando o teste da razão de verossimilhança, ficou evidenciada associação estatisticamente significativa do uso da terapia combinada com os grupos de infecção do citomegalovírus ($p < 0,05$) (Tabela 10).

Utilizando as variáveis com níveis descritivos nos testes univariados inferiores a 0,2 ($p < 0,2$), para verificar se as características, conjuntamente, podem influenciar na infecção com replicação, tem-se que, conjuntamente, o paciente em uso da terapia combinada exprime chance de replicação 3,63 vezes em comparação àquele que não faz uso desse tratamento ($p = 0,014$) (Tabela 11).

Tabela 8- Descrição dos grupos de infecção por CMV, segundo características de interesse nos pacientes com DC e resultado dos testes de associação

Variável	Grupo						Total	p
	Não infectado		Infectado sem replicação		Infectado com replicação			
	N	%	N	%	N	%		
Hemoglobina							0,419	
Sem anemia	10	5,7	158	89,8	8	4,5	176	
Com anemia	6	10,9	46	83,6	3	5,5	55	
PCR							0,865	
< 5	9	6,4	126	89,4	6	4,3	141	
≥ 5	6	6,9	76	87,4	5	5,7	87	
Calprotectina							0,629	
< 150	6	5,4	99	89,2	6	5,4	111	
≥ 150	10	8,3	105	87,5	5	4,2	120	
Sulfassalazina							0,915	
Não	14	7,2	172	88,2	9	4,6	195	
Sim	2	5,6	32	88,9	2	5,6	36	
Mesalazina							0,493	
Não	13	7,2	158	87,3	10	5,5	181	
Sim	3	6,0	46	92,0	1	2,0	50	
Mesalazina Supositório							a	
Não	16	6,9	204	88,3	11	4,8	231	
Azatioprina							0,214	
Não	4	4,2	88	92,6	3	3,2	95	
Sim	12	8,8	116	85,3	8	5,9	136	
Corticosteróide							0,348	
Não	13	6,3	186	89,4	9	4,3	208	
Sim	3	13,0	18	78,3	2	8,7	23	
Metotrexate							0,883	
Não	16	7,0	203	88,3	11	4,8	230	
Sim	0	0,0	1	100,0	0	0,0	1	
Infliximabe							0,045	
Não	15	8,8	150	87,7	6	3,5	171	
Sim	1	1,7	54	90,0	5	8,3	60	
Adalimumabe							0,147	
Não	16	7,5	188	88,3	9	4,2	213	
Sim	0	0,0	16	88,9	2	11,1	18	
Ciprofloxacina							0,553	
Não	14	7,1	174	88,8	8	4,1	196	
Sim	2	5,7	30	85,7	3	8,6	35	
Metronidazol							0,616	
Não	15	7,2	184	88,5	9	4,3	208	
Sim	1	4,3	20	87,0	2	8,7	23	
Ciclosporina							a	
Não	16	6,9	204	88,3	11	4,8	231	
Terapia combinada							0,005	
Não	16	8,6	165	88,2	6	3,2	187	
Sim	0	0,0	39	88,6	5	11,4	44	

Resultado do teste da razão de verossimilhanças

a = Não é possível calcular

Tabela 9- Descrição dos grupos de infecção por CMV, segundo características de interesse nos pacientes com RCU e resultado dos testes de associação

Variável	Grupo						Total	p
	Não infectado		Infectado sem replicação		Infectado com replicação			
	N	%	N	%	N	%		
Hemoglobina							0,111	
Sem anemia	7	6,0	106	90,6	4	3,4	117	
Com anemia	1	3,7	22	81,5	4	14,8	27	
PCR							0,345	
< 5	5	5,6	81	91,0	3	3,4	89	
≥ 5	3	5,6	46	85,2	5	9,3	54	
Calprotectina							0,087	
< 150	4	5,8	64	92,8	1	1,4	69	
≥ 150	4	5,4	63	85,1	7	9,5	74	
Sulfassalazina							0,350	
Não	5	6,6	65	85,5	6	7,9	76	
Sim	3	4,5	62	92,5	2	3,0	67	
Mesalazina							0,192	
Não	5	6,3	72	91,1	2	2,5	79	
Sim	3	4,7	55	85,9	6	9,4	64	
Mesalazina Supositório							0,698	
Não	8	5,7	124	88,6	8	5,7	140	
Sim	0	0,0	3	100,0	0	0,0	3	
Azatioprina							0,396	
Não	6	5,8	93	90,3	4	3,9	103	
Sim	2	5,0	34	85,0	4	10,0	40	
Corticosteróide							0,484	
Não	8	6,0	119	88,8	7	5,2	134	
Sim	0	0,0	8	88,9	1	11,1	9	
Metotrexate							a	
Não	8	5,6	127	88,8	8	5,6	143	
Infliximabe							0,409	
Não	7	5,4	116	89,9	6	4,7	129	
Sim	1	7,1	11	78,6	2	14,3	14	
Adalimumabe							0,188	
Não	8	5,7	126	89,4	7	5,0	141	
Sim	0	0,0	1	50,0	1	50,0	2	
Ciprofloxacina							0,291	
Não	8	6,0	117	88,0	8	6,0	133	
Sim	0	0,0	10	100,0	0	0,0	10	
Metronidazol							0,426	
Não	8	5,9	120	88,2	8	5,9	136	
Sim	0	0,0	7	100,0	0	0,0	7	
Ciclosporina							0,888	
Não	8	5,6	126	88,7	8	5,6	142	
Sim	0	0,0	1	100,0	0	0,0	1	
Terapia Combinada							0,093	
Não	8	5,9	122	89,7	6	4,4	136	
Sim	0	0,0	5	71,4	2	28,6	7	

Resultado do teste da razão de verossimilhanças

a = Não é possível calcular

Tabela 10- Descrição dos grupos de infecção por CMV, segundo características de interesse em todos os pacientes e resultados dos testes de associação

Variável	Grupo						Total	p
	Não infectado		Infectado sem replicação		Infectado com replicação			
	N	%	N	%	N	%		
Hemoglobina							0,195#	
Sem anemia	17	5,8	264	90,1	12	4,1	293	
Com anemia	7	8,5	68	82,9	7	8,5	82	
PCR							0,395	
< 5	14	6,1	207	90,0	9	3,9	230	
≥ 5	9	6,4	122	86,5	10	7,1	141	
Calprotectina							0,464	
< 150	10	5,6	163	90,6	7	3,9	180	
≥ 150	14	7,2	168	86,6	12	6,2	194	
Sulfassalazina							0,587	
Não	19	7,0	237	87,5	15	5,5	271	
Sim	5	4,9	94	91,3	4	3,9	103	
Mesalazina							0,704	
Não	18	6,9	230	88,5	12	4,6	260	
Sim	6	5,3	101	88,6	7	6,1	114	
Mesalazina Supositório							0,692#	
Não	24	6,5	328	88,4	19	5,1	371	
Sim	0	0,0	3	100,0	0	0,0	3	
Azatioprina							0,165	
Não	10	5,1	181	91,4	7	3,5	198	
Sim	14	8,0	150	85,2	12	6,8	176	
Corticosteróides							0,433#	
Não	21	6,1	305	89,2	16	4,7	342	
Sim	3	9,4	26	81,3	3	9,4	32	
Metotrexate							0,885#	
Não	24	6,4	330	88,5	19	5,1	373	
Sim	0	0,0	1	100,0	0	0,0	1	
Infliximabe							0,068#	
Não	22	7,3	266	88,7	12	4,0	300	
Sim	2	2,7	65	87,8	7	9,5	74	
Adalimumabe							0,066#	
Não	24	6,8	314	88,7	16	4,5	354	
Sim	0	0,0	17	85,0	3	15,0	20	
Ciprofloxacina							0,749#	
Não	22	6,7	291	88,4	16	4,9	329	
Sim	2	4,4	40	88,9	3	6,7	45	
Metronidazol							0,692#	
Não	23	6,7	304	88,4	17	4,9	344	
Sim	1	3,3	27	90,0	2	6,7	30	
Ciclosporina							0,885#	
Não	24	6,4	330	88,5	19	5,1	373	
Sim	0	0,0	1	100,0	0	0,0	1	
Terapia combinada							0,001#	
Não	24	7,4	287	88,9	12	3,7	323	
Sim	0	0,0	44	86,3	7	13,7	51	

Resultado do teste qui-quadrado

Resultado do teste da razão de verossimilhanças

Tabela 11- Resultado do modelo de regressão logística múltipla para explicar a replicação do CMV

Variável	OR	IC (95%)		p
		Inferior	Superior	
Hemoglobina				
Sem atividade	1,00			
Com atividade	1,38	0,45	4,28	0,576
PCR				
Sem atividade	1,00			
Com atividade	1,54	0,54	4,38	0,419
Terapia Combinada				
Não	1,00			
Sim	3,63	1,30	10,12	0,014

Resultado da regressão logística

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

O presente estudo analisou 400 pacientes ambulatoriais com DII, sem prévia seleção, tomados, aleatoriamente, no intuito de avaliar um grupo que melhor representasse a população geral de pacientes com DII no HCFMUSP.

Avaliando por meio dos índices clínicos, a maior parte dos doentes caracterizaram-se como doença quiescente / leve (50,8% / 22,18% na DC e 0 / 86% na RCU). Mas, diferente dos outros trabalhos, avaliamos atividade inflamatória intestinal, também, por meio da calprotectina fecal. Evidenciando que mais da metade dos pacientes figuravam valores da calprotectina acima de 150ng/ml, denotando atividade inflamatória intestinal. A correlação da calprotectina fecal e atividade endoscópica e histológica da DII já está bem estabelecida. A calprotectina é um melhor marcador de atividade inflamatória, quando comparada aos índices clínicos e marcadores séricos. Inclusive, foi constatada associação entre a calprotectina fecal ($\geq 150\text{ng/ml}$), Proteína C reativa (≥ 5) e anemia e não se encontrou associação com os índices clínicos. Estes resultados corroboram a literatura, que é bastante crítica em relação aos índices clínicos^(31, 32, 81-83).

A minoria dos pacientes deste experimento encontrava-se com baixo peso quando foram categorizados pelo IMC (5,2% no grupo com DC e 2,2% no com RCU). Uma boa percentagem dos pacientes foi estimada com sobrepeso ou com algum grau de obesidade (35,7% na DC e 48,9% na RCU). Estes resultados

corroboram com os dados de outras publicações demonstrativas de que o grupo de pacientes com DII também está ganhando peso e se tornando obeso, como a população global^(84, 85).

A porcentagem bastante elevada de pacientes infectados pelo CMV, como evidenciado pela presença de anticorpos IgG anti-CMV, corrobora a ideia de elevada soroprevalência em países em desenvolvimento^(1, 6, 9, 38). Pelo teste de Fischer e a regressão logística simples, não foi encontrada diferença estatística entre o grupo de pacientes não infectados e o grupo com infecção latente em relação aos índices de atividade da DII, proteína C reativa e calprotectina fecal. Isto vai de encontro com algumas hipóteses: de Kandiel et al.⁽³⁹⁾ que afirmam que alguns estudos indicaram que a infecção pelo CMV pode levar ao desenvolvimento da DII, e conclui que infecção pelo CMV complica a colite na DII; de Kishore et al.⁽⁵⁰⁾ que chama a atenção da infecção pelo CMV ser subestimada e causar prejuízo clínico no paciente com DII; e a de Onyeagocha et al.⁽⁶²⁾ que realizou um estudo experimental e sugere que a infecção latente pelo CMV altera a susceptibilidade de desenvolver colite grave. Vale ressaltar que apenas 24 pacientes (6,45%) não haviam sido infectados, exibindo sorologia IgG e IgM para CMV negativas.

Não foi evidenciada replicação viral por meio do PCR no sangue em nenhum caso. Provavelmente, se encontrou este resultado nulo por se haver avaliado pacientes ambulatoriais, não selecionados. O trabalho sob relatório corrobora os estudos defensores da hipótese de que frequência da replicação viral e da doença pelo CMV em pacientes com DII não é tão alta como algumas vezes difundido, questionando a virulência do CMV nos pacientes com DII^(10, 36, 57, 66, 67).

Quase metade dos pacientes, 184 (46,23%), utilizava azatioprina, 102 (25,63%) usavam terapia biológica (infiximabe ou adalimumabe) e 32 (8,04%) tomavam glicocorticoides. Apesar do expressivo número de pacientes em uso de imunossupressores e mais da metade de pacientes com DII ativa, não evidenciou nenhum caso positivo de detecção do DNA do CMV por PCR no sangue. Estes resultados também são reforçados com a ideia de Leveque et al. ⁽⁶⁷⁾ que demonstram infrequente detecção do CMV por meio de PCR em biopsia colônicas, mesmo em grupos selecionados.

No decorrer deste trabalho mais e mais artigos surgiram defendendo o argumento de que o CMV é um achado ocasional, um espectador na enterocolite da DII, contestando a ideia do maior risco de CMVD em pacientes com DII e da associação entre CMV e DII ^(10, 36, 57, 66, 67).

Não se evidenciou qualquer associação de replicação do CMV e gravidade da DII, tanto na DC como na RCU. Ressaltando o fato, da casuística desta investigação não dispor de pacientes com RCU na forma grave pela categorização de TrueLove & Witts ⁽²⁹⁾, o que prejudica a avaliação do papel desempenhado pelo CMV neste grupo específico de pacientes.

Pillet et al. ⁽⁵⁷⁾ sugerem que a terapia imunossupressora não parece ter impacto sobre a reativação do CMV em pacientes com DC, e indicam que o TNF-alfa aumenta a replicação viral do CMV, logo, as drogas anti-TNF podem reduzir o risco de reativação do CMV. Os autores ainda acreditavam que, na DC, o mecanismo da ação do anti TNF-alfa deveria proteger da reativação do CMV. Encontrou-se, no entanto, neste estudo, replicação viral do CMV na DC, como também na RCU, e o anti TNF-alfa não pareceu proteger contra replicação viral, ao contrário, descobriu-se

associação entre replicação viral do CMV e uso de anti-TNF alfa em pacientes acompanhados com DC. Estes achados não atestam, pois, as suposições de Pillet et al. ⁽⁵⁷⁾ do contrário as invalidam.

No presente estudo foi comprovada associação significativa entre replicação viral do CMV e o uso da terapia combinada: terapia biológica (infliximabe ou adalimumabe) acrescida de um imunossupressor (azatioprina ou metotrexate). Provavelmente a maior imunossupressão favorece esta replicação viral. Esta maior replicação não foi acompanhada de maior atividade inflamatória intestinal, evidenciada pela calprotectina fecal, favorecendo ainda mais a ideia do CMV ser um espectador do processo inflamatório da DII, ou seja, quanto maior a imunossupressão medicamentosa, ou o estado de imunossupressão ocasionado pela doença, maior também será a possibilidade de replicação viral, mas isto não parece ser acompanhado de piora da DII. Esta hipótese da imunossupressão favorecer a replicação viral, sem causar prejuízo clínico na DII já foi relatada por Manconi et al. ⁽⁶⁴⁾ porém com o uso de corticosteroides.

Acredita-se que a grande dificuldade metodológica dos trabalhos em categorizar claramente o grau de infecção pelo CMV em não infectados, infectados não replicantes, infectados com replicação e doença pelo CMV, dificulta um pouco a avaliação criteriosa de cada trabalho. Isto é sensível quando se observa a grande variação das taxas de doença pelo CMV publicadas em trabalhos anteriores, demonstrando que, provavelmente, infecção pelo CMV ou replicação foram relatadas como doença pelo CMV.

Certamente, muitas questões sobre o papel do CMV na DII ainda precisam de respostas, mas, com a melhora da padronização dos métodos diagnósticos e a melhor

compreensão da fisiopatologia do CMV, os estudos deverão convergir para taxas menores do diagnóstico de infecção ativa e doença pelo CMV em uma população com DII, e melhor caracterização do que seria doença no órgão alvo do TGI.

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

1. A infecção latente pelo CMV foi bastante prevalente no grupo estudado de pacientes com doença inflamatória intestinal, tanto no grupo com DC como naquele com RCU.

2. Em pacientes com DII não se encontrou associação entre a atividade da DII e infecção pelo CMV, mesmo em pacientes com replicação viral e em uso de terapia imunossupressora. O emprego da terapia combinada, no entanto, em pacientes com DII demonstra associação com a replicação viral pelo CMV, mas sem relação com a atividade inflamatória da DII.

7 REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS

1. Pannuti CS. Citomegalovirose. In: Veronesi R, Focaccia R, editors. Tratado de Infectologia. 4º ed: Ateneu; 2009. p. 363-71.
2. Taylor GH. Cytomegalovirus. *Am Fam Physician*. 2003;67(3):519-24.
3. Crough T, Khanna R. Immunobiology of human cytomegalovirus: from bench to bedside. *Clin Microbiol Rev*. 2009;22(1):76-98.
4. Papadakis KA, Tung JK, Binder SW, Kam LY, Abreu MT, Targan SR, Vasiliauskas EA. Outcome of cytomegalovirus infections in patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 2001;96(7):2137-42.
5. Criscuoli V, Rizzuto MR, Cottone M. Cytomegalovirus and inflammatory bowel disease: is there a link? *World J Gastroenterol*. 2006;12(30):4813-8.
6. Krech U. Complement-fixing antibodies against cytomegalovirus in different parts of the world. *Bull World Health Organ*. 1973;49(1):103-6.
7. Herfarth HH, Long MD, Rubinas TC, Sandridge M, Miller MB. Evaluation of a non-invasive method to detect cytomegalovirus (CMV)-DNA in stool samples of patients with inflammatory bowel disease (IBD): a pilot study. *Dig Dis Sci*. 2010;55(4):1053-8.
8. Pannuti CS, Vilas-Boas LS, Angelo MJ, Carvalho RP, Segre CM. Congenital cytomegalovirus infection. Occurrence in two socioeconomically distinct populations of a developing country. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1985;27(2):105-7.

9. Suassuna JH, Leite LL, Villela LH. Prevalence of cytomegalovirus infection in different patient groups of an urban university in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1995;28(2):105-8.
10. Lawlor G, Moss AC. Cytomegalovirus in inflammatory bowel disease: pathogen or innocent bystander? *Inflamm Bowel Dis.* 2010;16(9):1620-7.
11. Ayre K, Warren BF, Jeffery K, Travis SP. The role of CMV in steroid-resistant ulcerative colitis: a systematic review. *J Crohns Colitis.* 2009;3(3):141-8.
12. Patel R, Paya CV. Infections in solid-organ transplant recipients. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10(1):86-124.
13. Galiatsatos P, Shrier I, Lamoureux E, Szilagyi A. Meta-analysis of outcome of cytomegalovirus colitis in immunocompetent hosts. *Dig Dis Sci.* 2005;50(4):609-16.
14. Pereyra F, Rubin RH. Prevention and treatment of cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients. *Curr Opin Infect Dis.* 2004;17(4):357-61.
15. Rene E, Marche C, Chevalier T, Rouzioux C, Regnier B, Saimot AG, Negesse Y, Matheron S, Leport C, Wolff B, et al. Cytomegalovirus colitis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Dig Dis Sci.* 1988;33(6):741-50.
16. Kaufman HS, Kahn AC, Iacobuzio-Donahue C, Talamini MA, Lillemoe KD, Hamilton SR. Cytomegaloviral enterocolitis: clinical associations and outcome. *Dis Colon Rectum.* 1999;42(1):24-30.
17. Wyatt JP, Saxton J. Generalized cytomegalic inclusion disease. *J Pediatr.* 1950;36(3):271-94, illust.
18. Levine RS, Warner NE, Johnson CF. Cytomegalic inclusion disease in the gastro-intestinal tract of adults. *Ann Surg.* 1964;159:37-48.

-
19. Casadesus D, Tani T, Wakai T, Maruyama S, Iiai T, Okamoto H, Hatakeyama K. Possible role of human cytomegalovirus in pouchitis after proctocolectomy with ileal pouch-anal anastomosis in patients with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*. 2007;13(7):1085-9.
 20. Surawicz CM, Myerson D. Self-limited cytomegalovirus colitis in immunocompetent individuals. *Gastroenterology*. 1988;94(1):194-9.
 21. Bamias G, Nyce MR, De La Rue SA, Cominelli F. New concepts in the pathophysiology of inflammatory bowel disease. *Ann Intern Med*. 2005;143(12):895-904.
 22. Vilela EG, Torres HO, Martins FP, Ferrari Mde L, Andrade MM, Cunha AS. Evaluation of inflammatory activity in Crohn's disease and ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*. 2012;18(9):872-81.
 23. Biancone L, De Nigris F, Del Vecchio Blanco G, Monteleone I, Vavassori P, Geremia A, Pallone F. Review article: monitoring the activity of Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2002;16 Suppl 4:29-33.
 24. Konikoff MR, Denson LA. Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2006;12(6):524-34.
 25. Poullis A, Foster R, Northfield TC, Mendall MA. Review article: faecal markers in the assessment of activity in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2002;16(4):675-81.
 26. Sostegni R, Daperno M, Scaglione N, Lavagna A, Rocca R, Pera A. Review article: Crohn's disease: monitoring disease activity. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003;17 Suppl 2:11-7.

27. D'Haens G, Sandborn WJ, Feagan BG, Geboes K, Hanauer SB, Irvine EJ, Lémann M, Marteau P, Rutgeerts P, Schölmerich J, Sutherland LR. A review of activity indices and efficacy end points for clinical trials of medical therapy in adults with ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2007;132(2):763-86.
28. Best WR, Becktel JM, Singleton JW, Kern F, Jr. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology*. 1976;70(3):439-44.
29. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. *Br Med J*. 1955;2(4947):1041-8.
30. Naber AH, de Jong DJ. Assessment of disease activity in inflammatory bowel disease; relevance for clinical trials. *Neth J Med*. 2003;61(4):105-10.
31. Gisbert JP, McNicholl AG. Questions and answers on the role of faecal calprotectin as a biological marker in inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis*. 2009;41(1):56-66.
32. Vieira A, Fang CB, Rolim EG, Klug WA, Steinwurz F, Rossini LG, Candelária PA. Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes. *BMC Res Notes*. 2009;2:221.
33. Lewis JD. The utility of biomarkers in the diagnosis and therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2011;140(6):1817-26 e2.
34. Montalto M, Gallo A, Santoro L, D'Onofrio F, Landolfi R, Gasbarrini A. Role of fecal calprotectin in gastrointestinal disorders. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013;17(12):1569-82.
35. Vaos G, Kostakis ID, Zavras N, Chatzemichael A. The role of calprotectin in pediatric disease. *Biomed Res Int*. 2013;2013:542363.

-
36. Matsuoka K, Iwao Y, Mori T, Sakuraba A, Yajima T, Hisamatsu T, Okamoto S, Morohoshi Y, Izumiya M, Ichikawa H, Sato T, Inoue N, Ogata H, Hibi T. Cytomegalovirus is frequently reactivated and disappears without antiviral agents in ulcerative colitis patients. *Am J Gastroenterol*. 2007;102(2):331-7.
37. Boivin G, Handfield J, Toma E, Murray G, Lalonde R, Tevere VJ, Sun R, Bergeron MG. Evaluation of the AMPLICOR cytomegalovirus test with specimens from human immunodeficiency virus-infected subjects. *J Clin Microbiol*. 1998; 36(9):2509-13.
38. Domènech E, Vega R, Ojanguren I, Hernandez A, Garcia-Planella E, Bernal I, Rosinach M, Boix J, Cabré E, Gassull MA. Cytomegalovirus infection in ulcerative colitis: a prospective, comparative study on prevalence and diagnostic strategy. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14(10):1373-9.
39. Kandiel A, Lashner B. Cytomegalovirus colitis complicating inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(12):2857-65.
40. Michaelides A, Liolios L, Glare EM, Spelman DW, Bailey MJ, Walters EH, Williams TJ, Snell GI, Kotsimbos TC. Increased human cytomegalovirus (HCMV) DNA load in peripheral blood leukocytes after lung transplantation correlates with HCMV pneumonitis. *Transplantation*. 2001;72(1):141-7.
41. Gouarin S, Gault E, Vabret A, Cointe D, Rozenberg F, Grangeot-Keros L, Barjot P, Garbarg-Chenon A, Lebon P, Freymuth F. Real-time PCR quantification of human cytomegalovirus DNA in amniotic fluid samples from mothers with primary infection. *J Clin Microbiol*. 2002;40(5):1767-72.
42. Boom R, Sol C, Weel J, Lettinga K, Gerrits Y, van Breda A, Wertheim-Van Dillen P. Detection and quantitation of human cytomegalovirus DNA in faeces. *J Virol Methods*. 2000;84(1):1-14.

43. Maher MM, Nassar MI. Acute cytomegalovirus infection is a risk factor in refractory and complicated inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* 2009;54(11):2456-62.
44. Ford AC, Peyrin-Biroulet L. Opportunistic infections with anti-tumor necrosis factor-alpha therapy in inflammatory bowel disease: meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Gastroenterol.* 2013;108(8):1268-76.
45. Yi F, Zhao J, Luckheeram RV, Lei Y, Wang C, Huang S, Song L, Wang W, Xia B. The prevalence and risk factors of cytomegalovirus infection in inflammatory bowel disease in Wuhan, Central China. *Virology J.* 2013;10:43.
46. Rahbar A, Bostrom L, Lagerstedt U, Magnusson I, Soderberg-Naucler C, Sundqvist VA. Evidence of active cytomegalovirus infection and increased production of IL-6 in tissue specimens obtained from patients with inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 2003;9(3):154-61.
47. Dimitroulia E, Spanakis N, Konstantinidou AE, Legakis NJ, Tsakris A. Frequent detection of cytomegalovirus in the intestine of patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2006;12(9):879-84.
48. Mariguela VC, Chacha SG, Cunha Ade A, Troncon LE, Zucoloto S, Figueiredo LT. Cytomegalovirus in colorectal cancer and idiopathic ulcerative colitis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2008;50(2):83-7.
49. Kambham N, Vij R, Cartwright CA, Longacre T. Cytomegalovirus infection in steroid-refractory ulcerative colitis: a case-control study. *Am J Surg Pathol.* 2004;28(3):365-73.
50. Kishore J, Ghoshal U, Ghoshal UC, Krishnani N, Kumar S, Singh M, Ayyagari A. Infection with cytomegalovirus in patients with inflammatory bowel disease: prevalence, clinical significance and outcome. *J Med Microbiol.* 2004;53(Pt 11):1155-60.

-
51. Domm S, Cinatl J, Mrowietz U. The impact of treatment with tumour necrosis factor-alpha antagonists on the course of chronic viral infections: a review of the literature. *Br J Dermatol.* 2008;159(6):1217-28.
52. Stallmach A, Hagel S, Bruns T. Adverse effects of biologics used for treating IBD. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2010;24(2):167-82.
53. Helbling D, Breitbach TH, Krause M. Disseminated cytomegalovirus infection in Crohn's disease following anti-tumour necrosis factor therapy. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2002;14(12):1393-5.
54. Pickering O, Weinstein T, Rubin LG. Fatal disseminated cytomegalovirus infection associated with infliximab and 6-mercaptopurine therapy in a child with Crohn disease. *Pediatr Infect Dis J.* 2009;28(6):556.
55. D'Ovidio V, Vernia P, Gentile G, Capobianchi A, Marcheggiano A, Viscido A, Martino P, Caprilli R. Cytomegalovirus infection in inflammatory bowel disease patients undergoing anti-TNFalpha therapy. *J Clin Virol.* 2008;43(2):180-3.
56. Lavagna A, Bergallo M, Daperno M, Sostegni R, Costa C, Leto R, Crocellà L, Molinaro G, Rocca R, Cavallo R, Pera A. Infliximab and the risk of latent viruses reactivation in active Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2007;13(7):896-902.
57. Pillet S, Pozzetto B, Jarlot C, Paul S, Roblin X. Management of cytomegalovirus infection in inflammatory bowel diseases. *Dig Liver Dis.* 2012; 44(7):541-8.
58. Adler SP, Hempfling SH, Starr SE, Plotkin SA, Riddell S. Safety and immunogenicity of the Towne strain cytomegalovirus vaccine. *Pediatr Infect Dis J.* 1998;17(3):200-6.

-
59. Criscuoli V, Mocciaro F, Orlando A, Rizzuto MR, Renda MC, Cottone M. Cytomegalovirus disappearance after treatment for refractory ulcerative colitis in 2 patients treated with infliximab and 1 patient with leukapheresis. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15(6):810-1.
60. Nakase H, Chiba T. TNF-alpha is an important pathogenic factor contributing to reactivation of cytomegalovirus in inflamed mucosa of colon in patients with ulcerative colitis: lesson from clinical experience. *Inflamm Bowel Dis.* 16(4):550-1.
61. Nakase H, Yamamoto S, Matsuura M, Honzawa Y, Chiba T. Cytomegalovirus affects clinical outcome of infliximab in ulcerative colitis refractory to tacrolimus. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;32(3):510-1.
62. Onyeagocha C, Hossain MS, Kumar A, Jones RM, Roback J, Gewirtz AT. Latent cytomegalovirus infection exacerbates experimental colitis. *Am J Pathol.* 2009;175(5):2034-42.
63. Criscuoli V, Casa A, Orlando A, Pecoraro G, Oliva L, Traina M, Rizzo A, Cottone M. Severe acute colitis associated with CMV: a prevalence study. *Dig Liver Dis.* 2004;36(12):818-20.
64. Maconi G, Colombo E, Zerbi P, Sampietro GM, Fociani P, Bosani M, Cassinotti A, Casini V, Russo A, Ardizzone S, Porta M, Bianchi Porro G. Prevalence, detection rate and outcome of cytomegalovirus infection in ulcerative colitis patients requiring colonic resection. *Dig Liver Dis.* 2005;37(6):418-23.
65. Kopylov U, Sasson G, Geyshis B, Oikawa MT, Barshack I, Eliakim R, Ben-Horin S. Cytomegalovirus positive ulcerative colitis: A single center experience and literature review. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2013;4(1):18-23.
66. Kim JJ, Simpson N, Klipfel N, Debose R, Barr N, Laine L. Cytomegalovirus infection in patients with active inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* 2010; 55(4):1059-65.

67. Lévêque N, Brix-Benmansour H, Reig T, Renois F, Talmud D, Brodard V, Coste JF, De Champs C, Andréoletti L, Diebold MD. Low frequency of cytomegalovirus infection during exacerbations of inflammatory bowel diseases. *J Med Virol*. 2010;82(10):1694-700.
68. Wada Y, Matsui T, Mataka H, Sakurai T, Yamamoto J, Kikuchi Y, Yorioka M, Tsuda S, Yao T, Yao S, Haraoka S, Iwashita A. Intractable ulcerative colitis caused by cytomegalovirus infection: a prospective study on prevalence, diagnosis, and treatment. *Dis Colon Rectum*. 2003;46(10 Suppl):S59-65.
69. de Saussure P, Lavergne-Slove A, Mazon MC, Alain S, Matuchansky C, Bouhnik Y. A prospective assessment of cytomegalovirus infection in active inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004;20(11-12):1323-7.
70. Vega R, Bertran X, Menacho M, Domènech E, Moreno de Vega V, Hombrados M, Cabré E, Ojanguren I, Gassull MA. Cytomegalovirus infection in patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 1999;94(4):1053-6.
71. Pofelski J, Morand P, Roblin X, Gratacap BD, Nicod S, Bargues G, et al. Molecular characterization of cytomegalovirus in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2005;128(4):A512-A.
72. Cottone M, Pietrosi G, Martorana G, Casa A, Pecoraro G, Oliva L, Orlando A, Rosselli M, Rizzo A, Pagliaro L. Prevalence of cytomegalovirus infection in severe refractory ulcerative and Crohn's colitis. *Am J Gastroenterol*. 2001;96(3):773-5.
73. Takahashi Y, Tange T. Prevalence of cytomegalovirus infection in inflammatory bowel disease patients. *Dis Colon Rectum*. 2004;47(5):722-6.
74. Alcalá MJ, Casellas F, Pallares J, de Torres I, Malagelada JR. [Infection by cytomegalovirus in patients with ulcerative colitis requiring colonic resection]. *Med Clin (Barc)*. 2000;114(6):201-4.

-
75. Eyre-Brook IA, Dundas S. Incidence and clinical significance of colonic cytomegalovirus infection in idiopathic inflammatory bowel disease requiring colectomy. *Gut*. 1986;27(12):1419-25.
76. Cooper HS, Raffensperger EC, Jonas L, Fitts WT, Jr. Cytomegalovirus inclusions in patients with ulcerative colitis and toxic dilation requiring colonic resection. *Gastroenterology*. 1977;72(6):1253-6.
77. Wakefield AJ, Fox JD, Sawyerr AM, Taylor JE, Sweenie CH, Smith M, Emery VC, Hudson M, Tedder RS, Pounder RE. Detection of herpesvirus DNA in the large intestine of patients with ulcerative colitis and Crohn's disease using the nested polymerase chain reaction. *J Med Virol*. 1992;38(3):183-90.
78. Magro F, Langner C, Driessen A, Ensari A, Geboes K, Mantzaris GJ, Villanacci V, Becheanu G, Borralho Nunes P, Cathomas G, Fries W, Jouret-Mourin A, Mescoli C, de Petris G, Rubio CA, Shepherd NA, Vieth M, Eliakim R; European Society of Pathology (ESP); European Crohn's and Colitis Organisation (ECCO). European consensus on the histopathology of inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2013;7(10):827-51.
79. Chou SW, Dennison KM. Analysis of interstrain variation in cytomegalovirus glycoprotein B sequences encoding neutralization-related epitopes. *J Infect Dis*. 1991;163(6):1229-34.
80. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 2000;894:i-xii, 1-253.
81. Denis MA, Reenaers C, Fontaine F, Belaiche J, Louis E. Assessment of endoscopic activity index and biological inflammatory markers in clinically active Crohn's disease with normal C-reactive protein serum level. *Inflamm Bowel Dis*. 2007;13(9):1100-5.

-
82. Xiang JY, Ouyang Q, Li GD, Xiao NP. Clinical value of fecal calprotectin in determining disease activity of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol.* 2008;14(1):53-7.
83. Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, Trummeler M, Vavricka SR, Bruegger LE, Seibold F. Fecal calprotectin correlates more closely with the Simple Endoscopic Score for Crohn's disease (SES-CD) than CRP, blood leukocytes, and the CDAI. *Am J Gastroenterol.* 2010;105(1):162-9.
84. Nic Suibhne T, Raftery TC, McMahon O, Walsh C, O'Morain C, O'Sullivan M. High prevalence of overweight and obesity in adults with Crohn's disease: associations with disease and lifestyle factors. *J Crohns Colitis.* 2013;7(7):e241-8.
85. Steed H, Walsh S, Reynolds N. A brief report of the epidemiology of obesity in the inflammatory bowel disease population of Tayside, Scotland. *Obesity Facts.* 2009;2(6):370-2.

Anexo A: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL
LEGAL**

1. NOME:DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº:.....

SEXO: M F DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO:.....CIDADE:.....

CEP:.....TELEFONE:DDD(.....).....

2. RESPONSÁVEL LEGAL.....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL E
CITOMEGALOVÍRUS

PESQUISADOR : AYTAN MIRANDA SIPAHI

CARGO/FUNÇÃO: Médico INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 13443

UNIDADE DO HCFMUSP: DISCIPLINA DE GASTROENTEROLOGIA CLÍNICA

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : aproximadamente 24 meses

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Você está sendo convidado a participar de um estudo de pesquisa chamado DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL E CITOMEGALOVÍRUS porque você apresenta doença de Crohn ou Retocolite Ulcerativa.

1 – Desenho do estudo e objetivo(s): A Doença de Crohn e a Retocolite Ulcerativa são doenças inflamatórias intestinais que podem levar a desnutrição em grande parte dos pacientes. Esta desnutrição leva a diminuição das defesas do corpo facilitando ter infecções. Outro aspecto que interfere são as medicações utilizadas para o tratamento que também diminuem as defesas. Entre as infecções que estes pacientes se tornam mais fáceis de pegar, está incluído a doença pelo citomegalovírus que pode complicar a doença inflamatória intestinal tornando a ativa e piorando sua evolução. Este estudo quer avaliar a influência do citomegalovírus na doença inflamatória intestinal. Portanto, fornecemos estas informações para sua participação voluntária neste estudo.

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros: Você fará uma entrevista de 10 minutos, que será realizada no dia de sua consulta no hospital. Depois será colhida uma amostra de seu sangue após pegar uma veia do antebraço, 2 tubos pequenos, 10 ml (\pm 2 colheres de sopa). Será solicitado a você trazer uma amostra de suas fezes frescas, (o equivalente a um copo pequeno). Estes exames são para avaliar a atividade da doença inflamatória intestinal e pesquisa do citomegalovírus. Todos os resultados dos exames serão passados ao seu médico que decidirá a necessidade de qualquer tratamento adicional.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como serão realizados: Coleta de sangue após pegar uma veia do antebraço, coletando o equivalente a 02 tubos pequenos, 10 ml (\pm 02 colheres de sopa) para realização de exames para avaliar a atividade da doença inflamatória intestinal.

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3: dor no local da picada, pequeno hematoma (mancha roxa) ou infecção local. A coleta de fezes não traz nenhum risco, embora alguns possam achar constrangedor.

5 – Benefícios para o participante: O estudo pode não trazer benefícios diretos para você, embora, no final, possa trazer informações importantes sobre a relação da doença inflamatória intestinal com o citomegalovírus, podendo assim ajudar a melhorar o tratamento e a identificar os pacientes de maior risco que necessitarão de tratamento especial.

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar: O estudo não tem como objetivo avaliar qualquer tratamento para sua doença. No entanto, os resultados de todos os exames serão disponibilizados no seu prontuário para que possa ajudar seu médico no seu tratamento.

7 – Garantia de acesso: Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr. Aytan Miranda Sipahi, que pode ser encontrado no endereço: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Av. Dr. Arnaldo, 455 4º andar, sala 4384, bairro Cerqueira César, São Paulo-SP, Telefone: 3061-7279. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)-Rua Ovídio Pires de Campos, 225-5º andar-tel:3069-6442 ramais 16,17,18 ou 20, FAX:3069-6442 ramal 26-email:cappesq@hcnet.usp.br.

8 – É garantida sua liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

09 – Direito de confidencialidade: As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a sua identificação ou de qualquer outro paciente.

10 – Você tem todo direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, basta requerer aos pesquisadores.

11 – Despesas e compensações: Você não terá despesas pessoais em qualquer fase do estudo, já que a entrevista e a coleta de material para exames serão feitas no hospital. Também não haverá compensação financeira relacionada a sua participação.

12 - Os pesquisadores se comprometem a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa;

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL E CITOMEGALOVÍRUS".

Eu discuti com o Dr. Aytan Miranda Sipahi ou com a Dra Magaly Gemio Teixeira sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha

Data ____ / ____ / ____

Para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____ / ____ / ____

Anexo B: Ficha Padronizada - Questionário de Dados do Paciente

Nome: _____ Fone: _____

Etiqueta

--

 Tipo de DII: Doença de Crohn: 1
 Retocolite Ulcerativa: 2

Tempo da doença (anos): _____ Idade no diagnóstico: _____

Duração da doença (meses): _____ Idade no início dos sintomas: _____

Localização da doença: () boca () esôfago () estômago () duodeno () jejuno () íleo () ceco () cólon
() reto/sigmóide

Cirurgia prévia: () não () sim

Qual: _____

MEDICAÇÕES EM USO:

sulfassalazina	1 – sim	2 – não
mesalazina	1 – sim	2 – não
mesal. (supositório)	1 – sim	2 – não
azatioprina	1 – sim	2 – não
corticoide (vo/ev)	1 – sim	2 – não
corticoide (supositório)	1 – sim	2 – não
metotrexate	1 – sim	2 – não
infiximabe	1 – sim	2 – não
adalimumabe	1 - sim	2 - não
ciprofloxacina	1 – sim	2 – não
metronidazol	1 – sim	2 – não

EXAMES LABORATORIAIS

HT: _____

HB: _____

VCM: _____

CHCM: _____

LEUC: _____

PLAQ: _____

PROTEÍNA C REATIVA: _____

VHS: _____

SOROLOGIA CMV IgG: _____ IgM: _____

CALPROTECTINA FECAL: _____

PCR CMV DNA REAL-TIME SÉRICO: _____

PCR CMV-DNA FEZES: _____

Anexo C: Índice de Atividade Inflamatória na Doença de Crohn (IADC)

Dia da semana	5 ^a feira	6 ^a feira	Sábado	Domingo	2 ^a feira	3 ^a feira	4 ^a feira
Nº de evacuações líquidas							
Dor Abdominal							
0 → Ausente							
1 → Leve							
2 → Moderada							
3 → Intensa							
Bem estar							
0 → Ótimo							
1 → Bom							
2 → Regular							
3 → Ruim							
4 → Péssimo							
Consumo de antidiarreico (Imosec/Diasec ou Loperamida)							
Não (0)							
Sim (1)							
Massa Abdominal							
Ausente = 0							
Duvidosa = 2							
Bem definida = 5							
Sintomas/sinais associados:							
a) Artralgia/artrite							
b) Irite/uveíte							
c) Eritema nodoso/pioderma gangrenoso/aftas orais							
d) Fissura/fístula/abscesso anal							
e) Outras fistulas							
f) Febre							
Hematócrito:	Peso:		Altura:				

Soma total: <150 = Quiescente; 150-250 = Leve; 250-350 = Moderada; >350 = Grave

Anexo D- Critérios de gravidade na Retocolite Ulcerativa segundo Truelove e Witts

	1 ponto	2 pontos	3 pontos
Evacuações intestinais	< 4/dia	4-6/dia	>6/dia
Sangue nas fezes	Pouco	Moderado	Grave
Febre	Nenhuma	Média <37,5°C	Média >37,5°C
Taquicardia	Nenhuma	Pulso médio < 90	Pulso médio > 90
Anemia	Leve	>75%	<75%
VHS	<30mm		>30mm

6 a 8 Doença Leve; 9 a 15 Doença Moderada e > 15 Doença Grave