

# Rendimento da dosagem da adenosina desaminase para o diagnóstico da tuberculose pleural em região de alta prevalência da doença

*Accuracy of adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleurisy in region of high prevalence of disease*

Alexandre Curvelos Caldas<sup>1</sup>,  
Denise Duprat Neves<sup>2</sup>, Ricardo Marques Dias<sup>3</sup>

## RESUMO

**Introdução:** a tuberculose é a causa mais freqüente de derrame pleural em adultos no Brasil. Como existe dificuldade para o diagnóstico de certeza, temos por objetivo verificar o valor da adenosina desaminase (ADA) como teste diagnóstico para a tuberculose pleural, em área com alta prevalência desta doença. **Material e métodos:** estudamos 73 pacientes consecutivos com diagnóstico confirmado, 32 com tuberculose (TB) e 41 com outras causas (NTB): 14 parapneumônicos, 12 transudatos, 9 neoplasias e 6 de outras etiologias. A dosagem da ADA foi pela técnica de Giusti. Calculamos a sensibilidade e especificidade determinando o valor discriminatório de maior acurácia por meio da curva ROC. **Resultados:** não existe diferença entre o grupo TB e NTB com relação ao sexo. A média de idade é menor no grupo TB (34 anos - DP 16). O percentual de linfócitos é mais elevado no grupo TB, sendo a diferença especialmente maior para os derrames parapneumônicos. A ADA possui média maior no grupo TB e, considerando o valor discriminatório de 30U/L, a sensibilidade foi de 96,6% e a especificidade de 87,8%. **Conclusões:** a dosagem da ADA é um método útil e de baixo custo para o diagnóstico de probabilidade da tuberculose pleural, em áreas de alta prevalência desta doença.

**Descritores:** sensibilidade e especificidade, tuberculose, derrame pleural, adenosina desaminase.

## ABSTRACT

**Introduction:** in Brazil, tuberculosis is the major cause of pleural effusion in adults. The diagnosis of this form of tuberculosis is not easily made. Our objective was to verify accuracy of adenosine deaminase (ADA) for the diagnosis of pleural tuberculosis in area of high prevalence of this disease. **Material and methods:** we studied 73 consecutive patients with confirmed diagnosis, 32 with tuberculosis (TB) and 41 with others causes (NTB): 14 parapneumonic, 12 transudates, 9 malignant and 6 from other causes. ADA dosage was done by Giusti' techniques. Sensibility and Specificity was calculated after the identification of best accuracy cut off by ROC curve. **Results:** Considering gender, there was no difference between TB and NTB groups. The age was lower in TB group (34 years - SD 16). Percentage of lymphocytes was greater in TB, but the difference is specialty greater for parapneumonics. ADA have higher median in tuberculosis, and considering 30U/L as cut off value, the sensibility was 96.6% and the specificity was 87.8%. **Conclusions:** ADA dosage show usefulness and low cost for the diagnosis of probability of tuberculous pleural effusion in area of high prevalence of this disease.

**Keywords:** sensibility and specificity, tuberculosis, pleural effusion, adenosine deaminase.

1. Médico formado pela UNIRIO.
2. Prof. Adjunta de Pneumologia na UNIRIO
3. Prof. Titular de Pneumologia na UNIRIO

**Endereço correspondência:** Denise Duprat Neves. Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, DEMESP, Pneumologia. Rua Mariz e Barros, 775 Tijuca, 20270-004 Rio de Janeiro - RJ. Tel: 55 21 2569 7610 – ramal 304. E-mail: dduprat@unirio.br  
Artigo recebido para publicação no dia 09/03/2004 e aceito no dia 25/03/2004, após revisão.

## Introdução

A tuberculose pleural é responsável por aproximadamente 40% dos derrames exsudativos em adultos em nosso país<sup>1</sup>. Por isso, esta causa deve sempre ser investigada em nossa população.

O diagnóstico definitivo pela identificação do bacilo (por baciloscopia, cultura do líquido ou do fragmento pleural) nem sempre é possível, já que nesta localização a doença se manifesta com a presença de poucos bacilos<sup>1</sup>. O encontro do granuloma, com ou sem a necrose caseosa em fragmento de pleura parietal, sugere tuberculose, já que aproximadamente 90% dos granulomas pleurais, mesmo os inespecíficos, são de origem tuberculosa.

As limitações destes testes diagnósticos vem motivando a pesquisa de novos métodos com maior rentabilidade. A cultura pelo método radiométrico (como o BACTEC<sup>®</sup>), o imunoensaio enzimático (ELISA), a cromatografia gasosa e a pesquisa de ácido nucléicos (como a reação de polimerase em cadeia), são exames com boa perspectiva futura, porém ainda pouco disponíveis, de alto custo, ou com eficácia não comprovada<sup>2,3,4,5</sup>.

A dosagem da lisozima, gama interferon, ADA e suas isoenzimas são técnicas relativamente novas que podem ajudar no diagnóstico não bacteriológico, especialmente nas formas que acometem as serosas. Até o momento a dosagem da ADA tem se destacado como teste útil, de baixo custo operacional e com maior suporte na literatura para auxílio no diagnóstico da tuberculose pleural<sup>1,4,5,6,7</sup>.

O objetivo deste estudo foi verificar o valor da ADA como teste diagnóstico em pacientes residentes em área com alta prevalência da tuberculose.

## Materiais e métodos

Trata-se de um estudo transversal para avaliação de um teste diagnóstico, realizado em área de alta prevalência da tuberculose (município do Rio de Janeiro – Brasil).

Todos os pacientes incluídos na investigação assinaram um termo de consentimento pós-informado, concordando com a utilização do líquido pleural, que é retirado de rotina, para a dosagem da ADA. O termo de consentimento e o projeto de pesquisa foram aprovados pela Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG).

## Critérios de elegibilidade

Foram incluídos todos os pacientes em investigação de derrame pleural, que se submeteram

a punção-biópsia pleural no serviço de Pneumologia do HUGG. Excluímos os pacientes que apresentavam alterações no líquido pleural (como grumos ou turvamento), descongelamento acidental, pouco material, longo período de estocagem (maior do que 6 meses), ausência de diagnóstico de certeza e existência de material prévio.

## Rotina de exames laboratoriais e critérios para o diagnóstico

Realizamos os seguintes exames de rotina: a) no sangue periférico - proteínas, glicose, desidrogenase láctica (LDH) e colesterol; b) no líquido pleural - exames bioquímicos (glicose, proteína, LDH e colesterol), bacteriológicos (BAAR, GRAM, cultura para germens inespecíficos), leucometria e citologia. Pesquisa de antígeno carcinoembrionário (CEA), amilase, proteína C reativa, exames imunológicos, provas de atividade reumática e outros quando necessários, ou seja, se houvesse suspeita clínica ou permanesse sem diagnóstico após exames iniciais. A biópsia da pleura foi realizada com agulha de Cope, sendo retirados em média 3 fragmentos para exame histopatológico. As culturas para Micobactéria, do líquido e do fragmento foram solicitadas sempre que possível e enviadas ao Laboratório de Referência do Estado Noel Nutts, pois não é realizada pela rotina do hospital. Foram ainda solicitados PPD e telerradiografia de tórax PA e perfil, pré e pós-punção. A critério do médico assistente, para elucidação diagnóstica, outros exames foram também solicitados.

Os líquidos utilizados nas dosagens foram coletados antes do início de qualquer tratamento específico e avaliados sem o conhecimento prévio do diagnóstico.

Os pacientes foram classificados em grupos de acordo com a causa do derrame em tuberculose (TB) e outras causas (NTB).

O diagnóstico de tuberculose foi aceito quando preenchidos um ou mais dos seguintes critérios: presença de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) no exame direto ou cultura para o bacilo de Koch positiva no líquido ou fragmento pleural; presença do granuloma específico, com necrose caseosa, no fragmento pleural; presença de um exsudato pleural sugestivo de tuberculose, ou seja, um líquido com predomínio de linfócitos e com raras células mesoteliais, associado a doença tuberculosa comprovada bacteriologicamente em outra localização ou a granuloma na pleura.

O grupo não tuberculose (NTB) inclui pacientes com derrames pleurais de outras causas, como:

transudado (não inflamatório), sempre que preenchidos os critérios de Light e colaboradores<sup>8</sup>; neoplasia (segunda causa mais freqüente em nosso meio e de diagnóstico nem sempre fácil na prática, com os exames de rotina), parapneumônico e empiema (outra causa infecciosa comum), dentre outras. Todos estes diagnósticos seguiram os critérios recomendados na literatura médica<sup>1,4</sup>.

### **Rotina de estocagem e método de dosagem da ADA**

Os líquidos pleurais, livre de hemólise e sem anticoagulante, foram centrifugados a 1.000 x g por 15 minutos, logo após a coleta, e o sobrenadante alíquotado em vários frascos de Eppendorf de 2,5mL e armazenadas a -20°C. O uso de vários tubos se justifica, pois com o descongelamento do material, há perda de atividade. Sabemos pela literatura que os líquidos podem permanecer congelados, sem perda da atividade, por pelo menos 6 meses. Seu transporte até o laboratório, onde foram realizadas as dosagens, foi feito em recipientes que garantiam uma baixa temperatura.

Para dosagem da ADA utilizamos a técnica de Giusti<sup>9</sup>, um método artesanal pois o "kit" comercial disponível não foi validado. Esta técnica baseia-se na dosagem da amônia liberada pela transformação hidrolítica irreversível da adenosina em inosina catalisada pela enzima. A amônia forma, na presença de fenol em solução alcalina, um derivado indofenol com intensa cor azul. Esta reação é catalisada pelo nitroprussiato de sódio e pode ser quantificada por espectrofotometria. Os resultados foram expresso em U/L.

### **Análise estatística**

A diferença entre médias foi avaliada pelo teste t de Student e de proporções pelo qui-quadrado, considerando valores significativos quando  $p < 0,05$ .

Calculamos a sensibilidade e especificidade, determinando o valor discriminatório de maior acurácia por meio da curva ROC (receiver operating characteristic curve).

## **Resultados**

Foram excluídos da pesquisa 9 pacientes, dos quais cinco possuíam duas punções (dois com tuberculose, dois transudatos e uma neoplasia), dois em que não possível um diagnóstico de certeza e dois pacientes com diagnóstico provável de tuberculose.

Os 73 pacientes estudados foram divididos em dois grupos: 32 pacientes (43%) com tuberculose pleural confirmada e 41 pacientes (57%) com outros diagnósticos: 14 (19%) eram infecciosos, 12 (16%)

eram transudatos, 9 (12%) foram metástases, e 6 pacientes (8%) com outros diagnósticos como hemotórax, quilotórax, pancreatite, síndrome de Dressler, doença hepática ou renal.

Destes selecionados, 5 (6,8%) eram HIV positivos, dos quais 4 pertenciam ao grupo com tuberculose e um apresentava neoplasia.

A população estudada inclui 25 mulheres, das quais apenas 7 (28%) tinham tuberculose pleural. Dos 48 homens estudados 25 (52%) tinham tuberculose. Esta diferença não foi significativa ( $p=0,0855$ ).

O grupo da tuberculose pleural apresentou média de idade de 34 anos (DP 16), com amplitude de 16 a 71 anos. No grupo sem tuberculose, a média de idade foi de 53 anos (DP 18) com idade variando de 18 a 86 anos. Houve diferença estatística significativa ( $p=0,0001$ ) entre a média de idade dos pacientes do grupo TB para o NTB, sendo esta diferença mais evidente entre o grupo da tuberculose com o da neoplasia e do transudato. Não houve diferença entre o grupo da tuberculose e os com derrames parapneumônicos ( $p=0,097$ ).

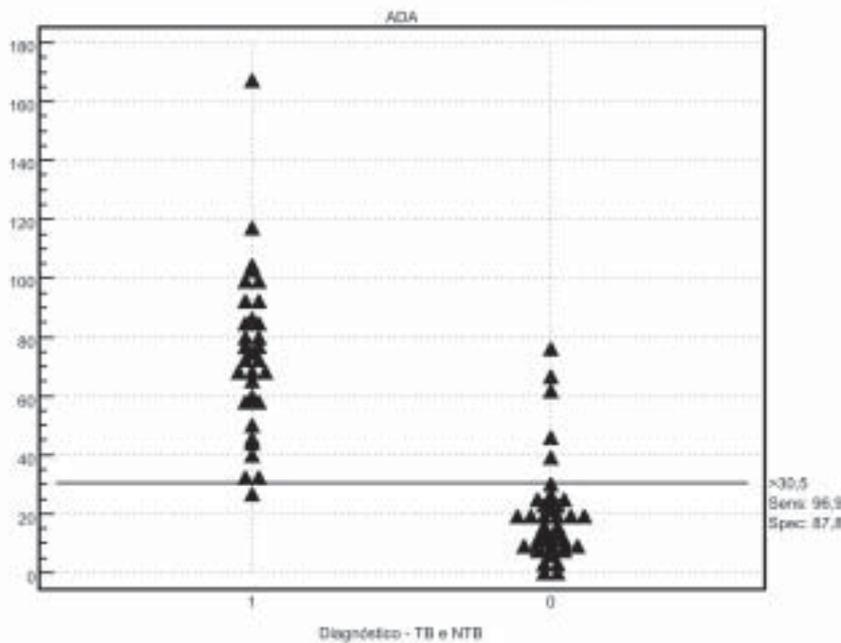
Com relação à leucometria, houve predomínio de linfócitos no líquido pleural tuberculoso, havendo diferença significativa entre o grupo TB e NTB ( $p=0,0007$ ), principalmente se compararmos especificamente o grupo de tuberculose com os parapneumônicos ( $p < 0,0001$ ). Essa diferença, entretanto, não foi significativa quando comparamos a leucometria do grupo com tuberculose com os grupos da neoplasia e transudato ( $p > 0,05$ ).

A ADA apresentou mediana de 73,7U/L, média de 74,5U/L e desvio padrão de 28,2U/L. O intervalo de confiança a 95% (IC95%) da média para os pacientes com tuberculose ficou entre 64,3U/L a 84,7U/L. O grupo sem tuberculose apresentou mediana de 15,7U/L, média de 19,8U/L com desvio padrão de 16,8U/L, e IC95% entre 10,9U/L a 25,1U/L. Uma diferença significativa entre os dois grupos foi observada ( $p < 0,0001$ ).

Pela curva ROC, com valores da ADA  $> 26$ U/L, o teste alcançou 100% de sensibilidade e 85,4% de especificidade. Quando elevamos o valor para 30U/L, a sensibilidade cai para 96,9% e a especificidade aumenta para 87,8%. Se aumentarmos ainda mais o valor discriminatório para 40U/L, a sensibilidade cai mais 6 pontos percentuais indo para 90,6%, enquanto a especificidade aumenta para 90,2%.

Usando como valor discriminatório ADA  $> 30$ U/L encontramos 6 resultados falso positivos. Destes, 4 eram parapneumônicos, um transudato e uma

**Figura 1** – Valores individuais da atividade da ADA no grupo TB e NTB.



pancreatite. Os valores individuais, no grupo TB e NTB, podem ser visto na figura 1.

## Discussão

A ADA, uma enzima importante na proliferação e diferenciação dos linfócitos, é encontrada em grande parte das células do corpo. Como teste diagnóstico para a tuberculose pleural possui, segundo dados da literatura, boa sensibilidade (90% a 100%) e especificidade um pouco mais baixa (83% a 97%), sendo que o valor discriminatório usado para o diagnóstico varia se 33 a 60U/L<sup>10,11</sup>.

Esse método já é aceito como critério de probabilidade desde o final da década de 90, inclusive recomendado pelo Consenso Brasileiro de Tuberculose<sup>12</sup>. A literatura mostra que não existe qualquer diferença no emprego da ADA entre pacientes HIV positivos e HIV negativos, especialmente com relação a sensibilidade<sup>13</sup>. No entanto, possui algumas limitações. Uma delas é a possibilidade de estar aumentada em outras causas de derrame como empiema, artrite reumatóide, em alguns linfomas e leucemias, e em poucos casos das demais neoplasias<sup>10,11</sup>.

Apesar do nosso estudo confirmar sua boa sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da tuberculose pleural em nossa região, ainda não existem evidências que sustentem seu uso como único ou principal método diagnóstico. Por sua alta sensibilidade pode ser utilizado para excluir o diagnóstico de tuberculose frente a uma dosagem baixa da enzima,

como propõe Ferrer e cols<sup>14</sup>, e outros exames na busca do diagnóstico estão indicados. Não deve ser usada como uma alternativa à biópsia pleural ou à cultura, mas de forma coadjuvante, colaborando para o diagnóstico dos 10 a 20% de pacientes em que a biópsia pleural é falso negativa<sup>13</sup>, dando maior subsídio ao diagnóstico de probabilidade.

Quando escolhemos um valor mais baixo da ADA para discriminar os dois grupos, aumentamos a sensibilidade em detrimento da especificidade. Em populações com alta prevalência de tuberculose, esse teste possui um valor preditivo positivo alto, ao passo que em países com baixa incidência da doença, o valor preditivo positivo cai,

aumentando a probabilidade de resultados falso positivos.

A área abaixo da curva de ROC foi de 0,963 para a ADA, 0,771 para idade e 0,748 para os linfócitos. Isso nos mostra, como dito anteriormente, que a ADA é um bom parâmetro para o diagnóstico de probabilidade, tendo melhor desempenho que a idade e da leucometria, variáveis consideradas quando classificamos os doentes como tuberculose provável.

A idade do paciente mostrou-se uma importante ferramenta para a distinção entre o derrame pleural neoplásico ou do transudato para o tuberculoso, já que os dois primeiros acometem caracteristicamente pacientes com idade mais elevada. Valdes e col<sup>15</sup>, avaliaram o rendimento da ADA em pacientes jovens em área de alta prevalência da tuberculose, observando que todos os pacientes jovens (idade < 35 anos) com resultados falsos positivos da ADA tinham empiema, facilmente diferenciados dos derrames por tuberculose.

A análise da leucometria mostrou também grande utilidade na distinção entre o derrame tuberculoso, com predomínio de linfócitos, e o parapneumônico ou empiemático, onde predominam os neutrófilos. Diversos autores sugerem a associação da ADA com a leucometria como uma forma de excluir os empiemas, causa mais freqüente de resultado falso positivo da ADA<sup>16,17,18</sup>.

Observamos uma maior freqüência de derrames, especialmente da tuberculose, no sexo masculino. A tuberculose pleural acomete aproximadamente 3,5 homens para cada mulher, fato que é descrito na

literatura<sup>10,13</sup>. Esse dado, entretanto, não tem valor como critério de probabilidade para o diagnóstico diferencial dos derrames pleurais.

Existe um interesse pela avaliação das isoenzimas da ADA, mas os resultados ainda são controversos<sup>19,20</sup>. A isoenzima ADA<sub>1</sub> é encontrada em todas as células, enquanto a ADA<sub>2</sub> é encontrada nos macrófagos e monócitos, justificando assim o aumento da ADA<sub>2</sub> em fluidos biológicos que contém microorganismos infectando macrófagos. Por isso, é importante estabelecer se o aumento da ADA pleural é decorrente de aumento da ADA<sub>1</sub> ou da ADA<sub>2</sub>, podendo assim diferenciar a tuberculose de outras causas e reduzindo o número de resultados falso positivos.

Concluimos que a dosagem da ADA é um método útil e de baixo custo para o diagnóstico de probabilidade da tuberculose pleural devendo fazer parte da rotina de investigação da causa do derrame pleural em área de alta prevalência da tuberculose.

#### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA**

1. Neves DD, Chibante AMS, Silva Júnior CT. Derrame Pleural. In: Sociedade de Pneumologia e Tisiologia do Estado do Rio de Janeiro. *Pneumologia - Aspectos práticos e atuais*. Rio de Janeiro: Revinter; 2001. p. 185-200.
2. Frye MD, Sahn SA. Diagnosis and management of tuberculous pleural effusions. [CD-ROM]; 1998. [cited 2000 November]. Available from: URL: <http://www.uptodate.com>
3. Light RW. Establishing the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Arch Intern Med* 1998;158:1967-8.
4. Chibante AMS. *Doenças da pleura*. Rio de Janeiro: Revinter; 1992.
5. Roth BJ. Searching for tuberculosis in pleural space. *Chest* 1999;116:3-5.
6. Villegas MV, Labrada LA, Saravia NG. Evaluation of polymerase chain reaction, adenosine deaminase and interferon- $\gamma$  in pleural fluid for the differential diagnosis of pleural tuberculosis. *Chest* 2000;118(5):1355-64.
7. Gakis C. The low cost of the adenosine deaminase assay [letter, comment]. *Chest* 1996;110(5):1376-7.
8. Light RW, Macgregor MI, Luchsinger PC, Ball WC Jr. Pleural effusions: The diagnosis separation of transudates and exudates. *Am Int Med* 1972;77(4):507-13.
9. Giusti G. Adenosine deaminase. In: Bergmeyer HU. *Methods of enzymatic analysis*. New York: Academic Press; 1974. p. 1093-9.
10. Bañales JL, Pineda PR, Fitzgerald M, Rubio H, Selman M, Salazar-Lezama M. Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusions: a report of 218 patients and review of the literature. *Chest* 1991;99(2):355-7.
11. Ena J, Vallis V, Oteyza CP, Salamanca RE. Utilidad y limitaciones de la adenosina desaminasa en el diagnóstico de la pleuresía tuberculosa. Estudio metaanalítico. *Med Clin (Barc)* 1990;95:333-5.
12. I Consenso Brasileiro de Tuberculose. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. *J Pneumol* 1997;23(6):281-342.
13. Riantawan P, Chaowalit P, Wongsangiem M, Rojanaraweewong P. Diagnostic value of pleural fluid adenosine deaminase in tuberculous pleuritis with reference to HIV coinfection and bayesian analysis. *Chest* 1999;116:97-103.
14. Ferrer JS, Munoz XG, Orriols RM, Light RW, Morell FB. Evolution of idiopathic pleural effusion: a prospective, long-term follow-up study. *Chest* 1996;109:1508-13.
15. Valdes L, Alvarez D, San José E, Juanatey JR, Pose A, Valle JM, Salgueiro M, Suarez JR. Value of adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusions in young patients in a region of high prevalence of tuberculosis. *Thorax* 1995;50:600-3.
16. Oliveira HG, Rossatto ER, Prolla JC. Pleural fluid adenosine deaminase and lymphocyte proportion: clinical usefulness in the diagnosis of tuberculosis. *Cytopathology* 1994;5(1):27-32.
17. Burgess LJ, Maritz FJ, Roux I, Taljaard JJJ. Combined use of pleural adenosine deaminase with lymphocyte/neutrophil ratio. Increased specificity for the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Chest* 1996;109(2):414-9.
18. Ocaña I, Martinez-Vázquez JM, Ribera E, Segura RM, Pascual C. Adenosine deaminase activity in the diagnosis of lymphocytic pleural effusions of tuberculous, neoplastic and lymphomatous origin. *Tubercle* 1986;67:141-5.
19. Carstens ME, Burgess LJ, Maritz FJ, Taljaard JJ. Isoenzymes of adenosine deaminase in pleural effusions: a diagnostic tool? *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2(10):831-5.
20. Pérez-Rodríguez E, Walton IJP, Hernandez JJS, Pallares E, Rubi J, Castro DJ, Nuovo GD. ADA1/ADAp ratio in pleural tuberculosis: an excellent diagnostic parameter in pleural fluid. *Respir Med* 1999;93:816-21. ■