

Adenosina desaminase, cultura de micobactérias e histopatológico: sensibilidades comparadas para diagnóstico de tuberculose pleural

Adenosine deaminase, mycobacterial culture and histopathology: comparative sensitivities for pleural tuberculosis

Cyro Teixeira da Silva Junior¹, Gilberto Perez Cardoso²,
Décio Horta Junior³, Remberto Mauricio de La Cruz Vargas Vilde⁴,
Carlos Roberto Moraes de Andrade⁵

RESUMO

Introdução: objetivo do trabalho foi comparar as sensibilidades dos exames de adenosina desaminase (ADA-L), cultura de micobactérias, cultura de fragmento pleural e histopatológico para diagnóstico de tuberculose pleural. **Métodos:** estudo secundário de 36 líquidos pleurais. Cultura de micobactérias em meio de Lowenstein-Jensen. Histopatológico com coloração de hematoxilina-eosina. Pesquisa de bacilo álcool ácido resistente no líquido pleural (BAAR-L). Dosagem da ADA-L pelo método de Giusti and Galanti. Comparação das sensibilidades dos exames com o histopatológico pelo teste Z ($p \leq 0,05$). Estatística Kappa para medir o grau de concordância entre o histopatológico e os demais exames. Classificação do coeficiente kappa interpretada segundo tabela de Byrt. **Resultados:** 22 casos de tuberculose pleural (61,0% dos casos) com as seguintes sensibilidades: ADA-L > 30UI/L: 100,0% (87,5 – 100,0); cultura de fragmento pleural: 77,0% (57,9 – 90,9); histopatológico: 55,0% (34,7 – 73,4) e cultura de líquido pleural: 31,0% (9,0 – 42,0). Teste Z e estatística kappa comparadas com histopatológico pleural: ADA-L > 30 UI/L (Z = -0,367; $p=0,03$; k = 1,0 – concordância excelente), cultura de fragmento pleural (Z = -0,194; $p=0,03$; k = 0,48 – concordância razoável), cultura de líquido pleural (Z = 0,261; $p=0,01$; k = -0,53 - sem concordância) e BAAR-L (Z = 2, 076; $p=0,03$; k = -1,12 - sem concordância). **Conclusões:** para diagnóstico de tuberculose pleural, somente a sensibilidade do exame de ADA-L possuiu grau de concordância excelente quando comparada com a do histopatológico pleural.

Descritores: derrame pleural; diagnóstico, tuberculose, sensibilidade.

ABSTRACT

Introduction: the aim of this study was to compare the sensitivity of pleural adenosine deaminase, pleural fluid mycobacterial culture, pleural tissue culture with histopathology for diagnosis of pleural effusion. **Methods:** analysis of not published primary date. Thirty six patients with exudative pleural effusion. Two specimens of pleura were obtained for mycobacterial culture and histopathological examination. Pleural fluid was cultured in Lowenstein-Jensen medium and performed adenosine deaminase (L-ADA) activity by method of Giusti and Galanti. Sensitivity of each exam. Z test statistically significant with $p \leq 0.05$. Cohen's Kappa statistic to calculate the agreement between histopathology and others exams. **Results:** tuberculosis: 22 patients (61.0% cases). Sensitivity of exams were L-ADA > 30IU/L of 100.0% (87.5 – 100.0), pleural tissue mycobacterial culture of 77.0% (57.9 – 90.9), pleural fluid culture of 31.0% (9.0 – 42.0) and histopathology in 55.0% (34.7 – 73.4). Z test and kappa index in comparison with histopathology: L-ADA > 30IU/L (Z = -0.367; $p=0.03$; k = 1.0 – excellent agreement), pleural tissue mycobacterial culture (Z = -0.194; $p=0.03$; k = 0.48 – reasonable agreement), pleural tissue mycobacterial culture (Z = -0.194; $p=0.03$; k = 0.48 - reasonable agreement), P-AFB (Z = 2, 076; $p=0, 03$; k = -1, 12 - without agreement) and pleural fluid culture (Z = 0.261; $p=0.01$; k = -0.53 - without agreement). **Conclusion:** for diagnosis of pleural tuberculosis, the sensitivity of the L – ADA examination only possessed degree of excellent agreement when compared with the pleural histopathology.

Keywords: pleural effusion; diagnosis, tuberculosis, sensibility.

Introdução

No Brasil, o derrame pleural representa a manifestação mais freqüente de tuberculose extrapulmonar¹. O derrame pleural por tuberculose ocorre em aproximadamente 30% dos casos de tuberculose¹.

O diagnóstico sintromico de derrame pleural é realizado pela análise do quadro clínico e imagético¹. Eventualmente são necessários para o diagnóstico da causa de síndrome do derrame pleural, os procedimentos de toracocentese, biópsia pleural fechada, toracoscopia e toracotomia. Os materiais para exames dos procedimentos acima são: líquido pleural, fragmentos de pleura parietal e/ou visceral e parênquima pulmonar¹.

Os exames convencionais para o diagnóstico de tuberculose pleural, nos materiais obtidos pelos procedimentos citados, incluem, tradicionalmente, a pesquisa do Bacilo Álcool Ácido Resistente (BAAR), a cultura de micobactérias e o exame de histopatológico pleural¹.

Uma alternativa, nos últimos anos, para o diagnóstico de tuberculose pleural, vem sendo a dosagem dos marcadores como a adenosina desaminase e interferon gama. Associados com o exame por sonda de DNA pela técnica da PCR (*polymerase chain reaction*) a sensibilidade do diagnóstico aumenta consideravelmente^{2,3}.

O objetivo do estudo foi comparar as sensibilidades dos exames de adenosina desaminase, cultura de micobactérias, cultura de fragmento pleural, baciloscopia e histopatológico para diagnóstico de tuberculose pleural.

Materiais e métodos

Delineamento: estudo secundário, correspondendo a revisão não sistemática, conduzida a partir do estudo primário publicado por P.K. Sinha e cols⁴.

Novos exames para diagnóstico de tuberculose pleural não foram realizados a partir da casuística de P.K. Sinha e cols. porque o delineamento é um estudo secundário. Somente delineamento com estudos suplementares acrescentam medições de um número pequeno de variáveis, para responder a uma nova hipótese de pesquisa.

Aspectos éticos e consentimento dos autores dos dados primários não foram considerados porque, segundo Hulley e cols., “os estudos de registros, dados ou espécimes já existentes, são tipos de pesquisa isentos de revisão pelo Comitê de Ética em Pesquisa, desde que existam amostras disponíveis ao público”⁵.

Os dados primários de trinta e seis pacientes com um primeiro episódio de derrame pleural exsudativo foram estudados.

Para o diagnóstico de tuberculose pleural, os autores consideraram a presença de granulomas no exame histopatológico ou evidência de exame bacteriológico conclusivo.

Biópsia pleural fechada foi procedida com agulha de Abrams e duas espécimens de pleura parietal eram obtidas de cada paciente. Um fragmento era processado para cultura de micobactérias em meio de Lowenstein-Jensen e outro para exame histopatológico.

Todas as culturas positivas para micobactérias eram examinadas microscopicamente e testadas para produção de niacina para confirmar a presença de BAAR.

A presença de BAAR também foi pesquisada em todas as amostras de líquido pleural.

Para exame histopatológico o fragmento pleural era fixada em formol a 10% e posteriormente examinado em cortes de parafina de 5µm e examinado com coloração de hematoxilina-eosina para presença de granulomas.

Os autores consideraram a presença dos granulomas no exame histopatológico para diagnóstico de tuberculose pleural.

Atividade da ADA no líquido pleural (ADA-L) foi determinada pelo método colorimétrico de Giusti e Galanti⁶.

Análise estatística

Os dados de todos os resultados descritos por Sinha e cols. foram transferidos para a planilha eletrônica do software Microsoft ExcelTM 2000, com a finalidade de estudo estatístico descritivo⁷.

O tipo de análise estatística empregada foi a tabular 2 x 2. As sensibilidades isoladas de cada exame

1. Professor Adjunto da Disciplina de Pneumologia da Universidade Federal Fluminense. Responsável pelo Laboratório de Pesquisa em Líquido Pleural da Disciplina de Pneumologia do Departamento de Medicina Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense.

2. Professor Titular do Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal Fluminense.

3. Mestre em Pneumologia pela Universidade Federal Fluminense.

4. Mestrando do Programa *Stricto Sensu* em Ciências Médicas da Universidade Federal Fluminense.

5. Professor Adjunto da Disciplina de Pneumologia da Universidade Federal Fluminense.

Trabalho realizado pelo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Médicas da Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ.

Endereço para correspondência: Cyro Teixeira da Silva Junior. Rua da Conceição 13/210 Centro 24020 080 Niterói RJ.

E-mail: ctsilvajunior@predialnet.com.br

Artigo recebido para publicação no dia 25/10/2004 e aceito no dia 21/12/2004, após revisão.

foram calculadas com seus respectivos intervalos de confiança de 95%⁸.

A análise estatística inferencial utilizada, e não publicada por Sinha e cols., foi a comparação das sensibilidades do exame da ADA-L, da cultura de micobactérias no líquido pleural e no fragmento pleural macerado, com o exame do histopatológico obtido por biópsia fechada com agulha⁸. Este foi considerado padrão áureo, pois a literatura vem mostrando ser o critério mais sensível para o diagnóstico da tuberculose pleural e por ser o de mais fácil acesso na rotina.

Com finalidade de medida de significância estatística dos exames com o padrão áureo selecionado, foi calculado o teste Z para proporções sem correção de continuidade, apesar no tamanho da amostra (n<30; n=22). Considerou-se que as amostras eram não emparelhadas e as variáveis dicotômicas⁹. Aceitou-se uma hipótese alternativa com valor de p≤0,05.

A estatística Kappa de Cohen foi utilizada para medir o grau de concordância entre o padrão áureo e os demais exames¹⁰. A classificação do coeficiente kappa foi interpretada segundo tabela de Byrt, apud Szklo & Nieto¹¹.

O programa *MedCalc* foi utilizado para a análise estatística inferencial.

Resultados

A prevalência das causas confirmadas nos 36 casos de derrame pleural exsudativo descritos no estudo original de Sinha e cols.⁴, estão resumidas na tabela 1.

Tabela 1 – Prevalência das causas confirmadas de derrame pleural exsudativo nos 36 casos avaliados.

| Causa | Casos (Prevalência - %) |
|-------------------|-------------------------|
| Tuberculose | 22 (61,0) |
| Parapneumônico | 05 (14,0) |
| Neoplasia maligna | 04 (11,0) |
| Indeterminada | 05 (14,0) |

Fonte: Sinha e cols, 1985⁴.

Tabela 2 – Sensibilidades dos exames nos 22 casos de derrame pleural por tuberculose e seus respectivos intervalos de confiança de 95 %.

| Exame | Amostras examinadas / pacientes | Sensibilidade - % (ic 95 %) |
|---------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| Adenosina desaminase pleural >30 UI/L | 22 / 22 | 100 (87,5 – 100) |
| Cultura de fragmento pleural | 17 / 22 | 77 (57,9 – 90,9) |
| Histopatológico | 12 / 22 | 55 (34,7 – 73,4) |
| Cultura de líquido pleural | 5 / 16 | 31 (9 – 42) |
| BAAR-L* | 1 / 22 | 5 (0 - 13,2) |

*BAAR-L: Bacilo Álcool Ácido Resistente no Líquido Pleural
Fonte: Sinha e cols, 1985⁴.

Tabela 3 – Comparação entre as sensibilidades do histopatológico pleural (determinado como padrão áureo) e os demais exames utilizados no diagnóstico dos 22 casos de tuberculose pleural.

| Histopatológico pleural | Significância estatística (teste z) | Valor de P |
|------------------------------|-------------------------------------|------------|
| ADA- L > 30 UI/L | Z = - 0,367 | 0,03 |
| Cultura de fragmento pleural | Z = - 0,194 | 0,03 |
| Cultura líquido pleural | Z = 0,261 | 0,01 |
| BAAR-L* | Z = 2,076 | 0,03 |

* BAAR-L: Bacilo Álcool Ácido Resistente do Líquido Pleural

Fonte: Dados primários de Sinha e cols, 1985⁴.

Tabela 4 - Grau de concordância entre o padrão áureo (histopatológico pleural) e os demais exames nos 22 casos de derrame pleural tuberculoso.

| Histopatológico pleural | Estatística Kappa | Interpretação (Byrt, 1996) |
|------------------------------|-------------------|----------------------------|
| ADA- L > 30 UI/L | K = 1,00 | Excelente |
| Cultura de fragmento pleural | K = 0,48 | Razoável |
| Cultura líquido pleural | K = - 0,53 | Sem concordância |
| BAAR-L* | K = - 1,12 | Sem concordância |

* BAAR-L: Bacilo Álcool Ácido Resistente no Líquido Pleural

Fonte: Dados primários de Sinha e cols, 1985⁴.

As sensibilidades calculadas, utilizando os casos conclusivos/positivos para cada exame, nos 22 casos confirmados de tuberculose pleural por histopatologia pleural ou bacteriologia estão resumidos na tabela 2

A significância estatística dos demais exames para diagnóstico de tuberculose pleural comparados com o histopatológico foi resumida na tabela 3.

A tabela 4 resume os resultados do grau de concordância entre o histopatológico, considerado padrão áureo, e os demais exames para diagnóstico de tuberculose pleural.

Discussão

A solicitação de um teste diagnóstico é uma das experiências mais rotineiras na prática médica. Os objetivos são vários, incluindo o diagnóstico de doenças. Não existe teste perfeito, isto é, aquele que com certeza absoluta determina a presença ou ausência da doença.

Na literatura pesquisada, esta sensibilidade do histopatológico pleural, para o diagnóstico de tuberculose pleural, variou de 40,0% e 90,0%¹². No estudo atual esta sensibilidade foi 55,0% (34,7% e 73,4%). Cabe ressaltar que somente a presença de granulonas no exame histopatológico foi considerado pelos autores para diagnóstico de tuberculose pleural.

A sensibilidade da cultura de fragmento pleural é um exame mais sensível do que a cultura do líquido pleural. É preconizada a sua realização em meio líquido

após o fragmento pleural ser macerado¹². Ao contrário da sensibilidade do presente estudo de 77,0% (57,9 – 90,9) em fragmento cultivado em meio sólido, trabalho clássico de Levine e colaboradores calculou uma sensibilidade de 90% quando a sensibilidade do histopatológico pleural foi associada ao exame de cultura do fragmento pleural em meio líquido¹³.

A sensibilidade da cultura de líquido pleural em meio sólido relatada na literatura varia de 10% a 30%¹. Nesta casuística a sensibilidade calculada pelos autores foi de 31%.

A sensibilidade da ADA-L variou entre 88,0% e 100,0% na literatura pesquisada, com o mesmo método de dosagem¹². O índice de sensibilidade encontrado para esta casuística (100%, com intervalo de confiança entre 87,5% e 100%) foi semelhante, estatisticamente, ao relatado na literatura. Isto comprova o grande número de pacientes com tuberculose pleural, cujo diagnóstico foi realizado pelo exame da ADA-L, pelo método de Giusti e Galanti. Todos os 22 pacientes com diagnóstico comprovado de tuberculose pleural, quando comparados com os outros grupos de pacientes (n = 9) com diagnósticos comprovados, apresentaram atividade de ADA-L maior do que 30 UI/L. Sinha e colaboradores utilizaram então o valor de 30 UI/L como valor de referência (“cut-off”) para o exame da ADA-L, o que aumentou a sensibilidade na amostra estudada. Este valor foi determinado, arbitrariamente, pelos autores originais do trabalho. Nesta população não possuímos dados para calcular o rendimento do teste com diferentes valores discriminatórios. Atualmente, os métodos estatísticos de contra-balanço e/ou curva ROC são os utilizados para tal cálculo e finalidade.

Concluiu-se que, para diagnóstico de tuberculose pleural, somente a sensibilidade do exame da ADA-L possui grau de concordância excelente quando comparada com sensibilidade do histopatológico pleural.

Comentários: Existem três maneiras gerais para utilização de dados primários: análise de dados secundários, estudos suplementares e revisões sistemáticas. O uso criativo de dados existentes é uma forma eficaz para pesquisadores, com tempo e recursos financeiros limitados, começarem a responder questões de pesquisa importantes de forma rápida e eficiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Neves DD, Silva Junior CT, Chibante AM. Derrame Pleural. In: Sociedade de Pneumologia e Tisiologia do Estado do Rio de Janeiro. Pneumologia: prática e atual. Rio de Janeiro: Revinter; 2001 p.185-199.
2. Neves DD, Preza PCA, Dias RM, Carvalho SRS, Chibante MAS, Silva Junior CT, Aidê MA. Comparatives study between interferon-gama and adenosine deaminase in the diagnosis of pleural effusion in a high prevalence area of tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med 1999;159(part 2):A13.
3. 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.
4. Sinha PK, Sinha BB, Sinha ARS. Diagnostic tuberculous pleural effusion: comparative sensivity of mycobacterial culture, histopathology and adenosine deaminase activity. J Assoc Physicians India 1985;33(10):644-5.
5. Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady D, Hearst N, Newman TB. Designing clinical research: an epidemiologic approach. Baltimore (USA): 2nd ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
6. Giusti G, Galanti B. Adenosine deaminase. In: HU. Bergmeyer. Methods of enzymatic analysis. 2nd ed. N.Y.: Academic Press; 1974. p.1092-9.
7. Levine DM, Berenson ML, Stephan D. Statistics for managers using Microsoft Excel (Updated Version). 1a ed. New York: Prentice Hall Inc; 1998.
8. Soares JF, Siqueira AL. Introdução à estatística médica. 2a ed. Belo Horizonte (MG): Coopmed; 2002.
9. Vieira S. Bioestatística. Tópicos avançados. 2a ed. Rio de Janeiro: Campus; 2003.
10. Cohen J. Weighted kappa. Psychol Bull 1968;70:213-20.
11. Szklo M, Nieto JF. Epidemiology, beyond the basis. Gaithersburg: Aspen Publications; 2000.
12. Silva Junior CT. Adenosina desaminase. Estudo clínico nos derrames pleurais. [Tese]. Rio de Janeiro (Niterói): Universidade Federal Fluminense; 1987.
13. Levine H, Metzger W, Lacera D, Kay L. Diagnosis of tuberculous pleurisy by culture of pleural biopsy specimen. Arch Intern Med 1970;126:269-71. ■