

## Atualização

# Novos métodos no diagnóstico da tuberculose pleural.

New diagnostic tools for pleural tuberculosis.

*Denise Duprat Neves<sup>1</sup>, Patrizio Morisson<sup>2</sup>.*

## RESUMO

Mesmo frente a uma grande evolução da medicina com relação ao diagnóstico e diante da possibilidade atual de tratamento eficaz para as diferentes causas do derrame pleural, o diagnóstico da tuberculose nesta localização continua sendo baseado em critérios estabelecidos há mais de 50 anos. São necessários testes mais sensíveis que o BAAR e mais rápidos que a cultura tradicional para este diagnóstico. Os autores apresentam uma atualização sobre o rendimento dos novos métodos para o diagnóstico da tuberculose pleural. Pode-se afirmar que a dosagem da adenosina desaminase (ADA), apesar de ser um método indireto (não bacteriológico), tem rendimento superior ao dos métodos tradicionais e já foi mais estudada que os demais novos métodos. Sua alta sensibilidade permite excluir a possibilidade do diagnóstico de tuberculose frente a valores inferiores a 30U/L. Diante de valores elevados de ADA, em um paciente jovem com um exsudato não purulento ou com predomínio de linfócitos, a probabilidade de o derrame ser secundário à tuberculose é superior a 90%. Outros exames podem auxiliar neste diagnóstico, mas um maior número de estudos ainda será necessário antes de incorporá-los à rotina.

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

## ABSTRACT

Despite many recent advances in medicine with regard to the diagnosis and the possibility of efficient treatment for different causes of the pleural effusion, the diagnosis of the pleural tuberculosis continues to depend upon methods and criteria established more than 50 years ago. New tests that are more sensitive than the BAAR and faster than the traditional culture are needed for accurate and prompt diagnosis. We present an evaluation of the usefulness of new methods for the diagnosis of the pleural tuberculosis. Measurement of adenosine deaminase (ADA), even an indirect method (not bacteriological), is already well studied and is useful in clinical practice. Its high sensitivity allows accurate exclusion of the possibility of tuberculosis, if values are lower than 30U/L. If ADA levels are raised in a young person without an empyema or in someone with a predominance of lymphocytes, the probability of the effusion being secondary to tuberculosis is greater than 90%. Other tests can assist in this diagnosis, but a larger number of studies are necessary before we can evaluate their role in clinical practice.

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

Em qualquer ciência o “corpo de informação” passa por revisões constantes, na medida em que novos conhecimentos vão sendo adquiridos. Toda nova tecnologia tem um “ciclo de vida”, com fases distintas de entusiasmo. A excitação inicial pelo novo e suas possibilidades, habitualmente exagerada, nos leva ao desapontamento com suas limitações na prática, mas na medida em que aprendemos a conviver com elas, ou as superamos, entramos na fase da realidade de sua utilização em nossa rotina.

Mesmo frente a uma grande evolução da medicina com relação ao diagnóstico e diante da possibilidade atual de tratamento eficaz para as diferentes causas do derrame pleural (DP), o diagnóstico da tuberculose - principal causa de DP entre adultos jovens em nosso meio - continua sendo baseado em critérios estabelecidos há mais de 50 anos.<sup>1</sup> Idealmente, a confirmação do diagnóstico se dá por meio da identificação do bacilo, como nos métodos baseados na bacteriologia e na biologia molecular, mas métodos indiretos que de-

1. Professora adjunta de Pneumologia na Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO). Doutora em Medicina.

2. Aluno da Escola de Medicina e Cirurgia – UNIRIO. Bolsista de Iniciação Científica do CNPq.

Trabalho realizado pela Disciplina Cardiopulmonar da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Não existe conflito de interesse.

**Endereço para correspondência:** Denise Duprat Neves. Rua Mariz e Barros 775, Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, DEMESP, Pneumologia. Tijuca, CEP 20270-004, Rio de Janeiro, Brasil. Tel: 55 21 2264-5015, e-mail: deduprat@gmail.com

Recebido em 09/11/2006 e aceito em 13/12/2006, após revisão.

tectam alterações imuno-bioquímicas produzidas pelo bacilo também têm sido utilizados, com maior rendimento diagnóstico.

Neste artigo apresentamos uma atualização sobre o rendimento e a utilização de novos métodos para o diagnóstico da tuberculose pleural.

## O DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO

As técnicas bacteriológicas tradicionais permanecem como as únicas formas de confirmação do diagnóstico da tuberculose, pois demonstram a presença do bacilo na lesão. Obviamente, considerando o baixo rendimento do exame direto e o longo tempo necessário para a confirmação por meio da cultura, técnicas mais sensíveis, para o exame direto, e mais rápidas, para o cultivo, são necessárias. Foi buscando uma solução para estes dois pontos que se desenvolveram as novas tecnologias aqui apresentadas.

A “cultura rápida” pelo BACTEC® (Becton Dickinson Diagnostic Instruments Systems) é um sistema comercial semi-automatizado, de cultivo em meio líquido, usado para o isolamento e a identificação de micobactérias, além dos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos, já em uso na rotina de diversos laboratórios. Fundamenta-se na detecção radiométrica de CO<sub>2</sub> produzido pela atividade metabólica das micobactérias, a partir de meio de cultura específico, marcado com C<sup>14</sup>. Esse teste pode ser realizado em qualquer material biológico, incluindo sangue, escarro, urina, lavado bronco-alveolar, líquido de serosas, tecidos, entre outros. O sistema BACTEC 460TB® e o BACTEC-MGIT 960® são os, atualmente, recomendados.

Apesar da sensibilidade poder ser maior com a inoculação do líquido pleural em meio de cultura a “beira do leito”,<sup>2</sup> o que é muito mais fácil utilizando-se meios líquidos, o rendimento das culturas de ambos os meios (o convencional de Lowenstein-Jensen e o Bactec®) são semelhantes: em torno de 15%, com o cultivo do líquido pleural, e de aproximadamente 80%, no fragmento de pleura.<sup>3</sup> Assim, a principal vantagem do sistema Bactec® é ser mais rápido que a cultura convencional, levando, em média, 15 a 21 dias para fornecer o diagnóstico, pelo menos a metade do tempo do método tradicional.<sup>2,3</sup>

A desvantagem desta técnica está ligada ao seu custo elevado e à utilização de material radioativo. Sistemas automatizados não radiométricos como o Bactec/Alert 3D® vêm sendo avaliados, podendo vir a ser usados em laboratórios de menor complexidade de países em desenvolvimento.<sup>4</sup> Outros métodos como a luciferase em meio de cultura, o tubo indicador de crescimento, o “Alamar Blue”, as placas de microdiluição para o teste de sensibilidade, entre outros, estão sendo avaliados, mas ainda não têm sido utilizados na rotina.<sup>5</sup>

Recentemente, as técnicas de amplificação dos ácidos nucleicos (NAA) têm merecido destaque, prometendo detectar a presença de poucos bacilos em horas.<sup>6</sup> A reação de polimerase em cadeia (PCR) baseia-

se na replicação ou “amplificação” do DNA do microorganismo, *in vitro*, sem proliferação biológica do organismo portador de tal genoma, criando-se milhões de cópias deste material, em poucas horas. O objetivo da “reação em cadeia”, que amplifica exponencialmente os novos produtos do DNA, é a de criar, em tese, um milhão de cópias, após 20 ciclos, podendo chegar a um bilhão, após 30 ciclos. Isto justificaria seu uso em formas paucibacilares, pois necessita de um número de bacilos significativamente menor do que o BAAR para um resultado positivo.

Eisenach e colaboradores,<sup>7</sup> em 1988, sintetizaram um iniciador que amplificou um fragmento presente numa seqüência repetitiva (IS6110) do DNA do *M. tuberculosis*. Esta tem sido a seqüência mais comumente empregada e foi desenvolvida comercialmente, recebendo a denominação de “Amplicor *Mycobacterium tuberculosis* assay” (Roche Diagnostic Systems, Branchburg, New Jersey). Posteriormente, outras metodologias foram propostas como a amplificação de um fragmento gênico da seqüência 16S que codifica o RNA ribossomial, e a detecção do RNA convertido em DNA complementar pela enzima transcriptase reversa.<sup>8</sup> Esta última técnica foi desenvolvida comercialmente com a denominação de “Gen probe Amplified *Mycobacterium tuberculosis* Direct Test” (AMTD da Gen-Probe, San Diego, CA), sendo positivo apenas quando existe RNA viável e presumindo-se que apresente correlação direta com atividade bacilar. Um estudo demonstrou que a concordância dos resultados obtidos com o AMTD e o Amplicor foi de 98,7%.<sup>9</sup> A técnica da PCR tem sido aperfeiçoada nos últimos anos, mas ainda não existe recomendação para seu uso em espécimes clínicas de origem não pulmonar.

As taxas de sensibilidade e especificidade da PCR dependem de inúmeros fatores, tais como: o tipo de iniciador; o padrão-ouro utilizado; o método de detecção do produto amplificado; o método de preparação da amostra para PCR (presença de inibidores, ocorrência de contaminação, método da extração), o uso de kits comerciais ou do próprio laboratório (“in house”); o número de ciclos; entre outros.<sup>6,10-13</sup> Portanto, o rendimento desse teste diagnóstico relatado é muito variado.

Ainda não existe consenso sobre a utilidade da PCR em líquido pleural. A sensibilidade descrita nos estudos varia de 13% a 100%, dependendo da seqüência amplificada e desenho do estudo, com uma especificidade de 78% a 100%.<sup>2,6,14-16</sup> Varia de 30% a 60%, nos com cultura negativa, a até 86% a 100%, naqueles com presença da micobactéria identificada por outro método.<sup>2,7,17</sup> Nos pacientes com diagnóstico de probabilidade, a sensibilidade foi menor (32%) dos que nos confirmados (74%) e, nestes, a confirmação do diagnóstico pelo histopatológico teve um rendimento menor (59%) do que nos com cultura positiva (86%).<sup>17</sup> Este fato também foi evidenciado em outro estudo, onde a sensibilidade foi de 100%, nos com BAAR positivo no lí-

quido, de 33,3%, nos com cultura positiva, e de apenas 3,7%, nos com exame bacteriológicos negativos mas histopatológico sugestivo de tuberculose.<sup>18</sup>

É um método promissor, bastante sensível, rápido e direto, mas com um alto custo, com técnica relativamente trabalhosa, e que requer aparelhos sofisticados para a sua realização. Deve-se destacar que seu uso em espécimes paucibacilares, como o líquido pleural, é muito limitado.<sup>18</sup>

#### MARCADORES DA TUBERCULOSE

Dentre estes, merecem destaque a dosagem do interferon gama (IFN- $\gamma$ ) e da atividade da adenosina desaminase (ADA) e suas isoenzimas, que já foram avaliados em um número maior de casos e com resultados promissores.<sup>1,19,20</sup>

##### **Adenosina desaminase e suas isoenzimas**

Até o momento, não se conhece, definitivamente, o mecanismo de elevação da ADA no derrame pleural secundário à tuberculose. Como os linfócitos são as células predominantes nos derrames dessa etiologia e contêm níveis elevados da enzima, inicialmente foi sugerido que a ADA teria origem nestas células. Não se conseguiu provar esta relação, pois não existe correlação entre os valores da ADA e a quantidade de linfócitos no líquido pleural.<sup>21,22</sup> Foi sugerida a possibilidade da ADA ser liberada pelos neutrófilos,<sup>23</sup> e mais recentemente pelos macrófagos.<sup>24</sup>

Há muitos estudos avaliando o rendimento da ADA no líquido pleural e de outras serosas, inclusive de dados nacionais. Uma meta-análise do rendimento da dosagem da ADA com mais de 2.000 pacientes, de diversos países, revela que um quarto destes derrames foi secundário a tuberculose. O valor discriminatório foi em média de 42U/L, com a sensibilidade e a especificidade variando de 55% a 100%, mas, geralmente, com ambas acima de 80%.<sup>25</sup>

Devido à alta sensibilidade, quando a dosagem da ADA for inferior a 30U/L, a probabilidade de tuberculose é menor do que 1,6%, e se maior do que 80U/L, a probabilidade de neoplasia é menor do que 0,6%.<sup>26</sup> O Consenso Brasileiro de Tuberculose<sup>27</sup> e as novas Diretrizes de Tuberculose<sup>28</sup> reconhecem a utilidade da ADA para o diagnóstico de probabilidade da tuberculose pleural, recomendando o valor discriminatório de 40U/L, associado à presença de outras características, como a presença de linfocitose em um exsudato.

Já foi observado que a ADA<sub>2</sub> é a isoenzima que predomina no derrame secundário à tuberculose, representando mais de 50% da atividade, em até 95% dos pacientes. Ambos os subtipos da ADA<sub>1</sub> estão presentes nos derrames infecciosos não tuberculosos, representando mais de 70% da atividade.<sup>29-31</sup> Nos derrames com outras causas, inclusive a neoplasia, as 3 isoenzimas estavam presentes de modo semelhante. Com relação ao rendimento como teste diagnóstico, a maioria dos trabalhos vem demonstrando problemas semelhantes

aos observados com a determinação da ADA total.<sup>31</sup> É possível que sua dosagem seja útil em alguns casos especiais, mas, na maioria das vezes, não é conclusiva e torna a investigação mais cara e trabalhosa.<sup>32,34</sup> Não se questiona somente sua utilidade, mas também existem controvérsias sobre o melhor método de quantificação das isoenzimas, utilizando diferentes substratos, adenosina e 2'desoxiadenosina ou o uso do inibidor específico, a eritro-9 (2-hidroxi-3-nonil) adenina - ENHA.<sup>32-35</sup>

Resultado falso-negativo é raro e pode ser observado na fase inicial, nos pacientes já em tratamento ou por erro na dosagem.<sup>36-37</sup> Resultados falso-positivos da ADA total são encontrados, principalmente, em alguns casos de doenças linfoproliferativas, nos raros casos de acometimento pleural por artrite reumatóide e nos empiemas, onde não há predomínio de linfócitos.<sup>22,25,38-40</sup>

##### **Interleucinas**

As **interleucinas** (IL) são peptídeos solúveis secretados pelas células e que irão afetar o comportamento de outras células próximas, por meio de mecanismo não enzimático. Linfócitos T previamente sensibilizados por um antígeno, quando estimulados por meio de um novo contato, sofrem transformação blástica e produzem linfocinas, que são importantes na resposta imune à tuberculose, aumentando, por exemplo, a atividade bactericida dos macrófagos. Várias citocinas participam da resposta imunológica à presença do *M. tuberculosis*, entre elas as interleucinas (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12), quimiocinas alfa e beta, fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), interferon (IFN), fator estimulador de crescimento de colônias. Algumas já foram avaliadas como teste diagnóstico em derrame pleural.

A IL-1 $\beta$  tem níveis mais elevados nos derrames bacterianos,<sup>41</sup> especialmente nos empiemas,<sup>42</sup> podendo ter alguma utilidade no diagnóstico diferencial com a tuberculose. No entanto, outros estudos são necessários para se estabelecer seu real rendimento. Para o diagnóstico da tuberculose, mostrou uma sensibilidade de 19% e especificidade de 74%.<sup>43</sup>

O fragmento do receptor da IL-2 tem sido identificado na superfície de várias células, incluindo os linfócitos T e B, monócitos e macrófagos, podendo ser liberado como uma forma solúvel. Já foi observado valor mais elevado deste nos derrames por tuberculose do que naqueles secundários a neoplasias e em outros benignos, que não a tuberculose, sugerindo que possa ser útil, especialmente, no diagnóstico diferencial entre os derrames bacterianos e o inicial da tuberculose.<sup>44</sup> Existe uma correlação positiva com os valores da ADA, no grupo da tuberculose ( $r=0,805$  e  $r=0,774$ ), descrita em 2 trabalhos.<sup>45,46</sup> Pode ser um marcador adicional, apesar de ser menos "confiável" que a ADA.

A dosagem de IL-2, IL-6 e IL-8 em derrames secundários a neoplasia e tuberculose mostra que apenas a IL-2 pode ser útil, apesar de ter um rendimento inferior a ADA e IFN.<sup>41,46</sup> A IL-6 e a IL-8 são importantes na resposta inflamatória aguda, exibindo valores maiores

nos exsudatos do que nos transudatos, e valores elevados foram descritos em casos de empiema, existindo correlação com a presença de neutrófilos.<sup>43</sup>

A IL-10, que inibe a inflamação mediada pelas células T, não se mostrou útil no diagnóstico diferencial dos derrames.<sup>47</sup> A IL-12 conhecida por sua importante ação em promover a atividade de células NK e a resposta mediada por célula Th1, controlando a produção de IFN pelas células T e NK, encontra-se elevada nos derrames tuberculosos, em relação aos malignos, mas com um rendimento menor, para o diagnóstico diferencial, do que o IFN.<sup>47,48</sup> A IL-16 também encontra-se mais elevada no derrame secundário a TB do que nos malignos, sendo, no entanto, de pouca utilidade no diagnóstico diferencial, devido à sobreposição entre os dois grupos.<sup>49</sup>

O *interferon* (IFN) foi inicialmente descrito, em 1977, como uma substância solúvel, com atividade antiviral. É uma das principais citocinas produzidas pelas células Th1 e, reconhecidamente, a mais importante no estímulo a macrófago, tendo ação importante na infecção por organismos intracelulares, onde participa da formação de granulomas e da resposta de hipersensibilidade retardada.<sup>5</sup> É dosado pela técnica de ELISA, com substância marcada com radiatividade ou não, de modo simples e reprodutível. As diferenças quanto à técnica de dosagem entre os estudos dificulta estabelecer o melhor valor discriminatório para o IFN como teste diagnóstico. Inicialmente, foi pesquisado no líquido pleural e no sangue, mas devido a sua produção ser local, não existe correlação entre estas duas dosagens, nem a dosagem sérica mostrou utilidade.<sup>50</sup>

Os estudos mostram sensibilidade em torno de 94% e especificidade variando de 92 a 100%,<sup>42,50-53</sup> mesmo na presença de imunodepressão.<sup>54-56</sup> Seu desempenho, em termos de acurácia, é semelhante ao da ADA, para o diagnóstico da tuberculose pleural.<sup>42,55,57</sup> Pode-se esperar por resultado falso positivo, especialmente no derrame secundário a doenças autoimunes e nos causados por patógenos intracelulares.<sup>52,58</sup>

Parece ser promissor, uma vez que apresenta um bom rendimento. Pode ser utilizado em associação à ADA, pois não existe correlação entre suas dosagens, e apresenta resultados falsos em casos distintos.<sup>52</sup> No entanto, seu custo é bem mais elevado, cerca de 15 vezes maior que o da ADA.<sup>55,59</sup>

O *fator de necrose tumoral alfa* (TNF- $\alpha$ ) é uma glicoproteína com atividade pleomorfa, sendo um mediador central nas inflamações. Liberada tanto por fagócitos mononucleares quanto por linfócitos T, esta citocina tem como uma das suas principais ações o recrutamento de polimorfonucleares para o sítio de lesão. É fundamental para a formação do granuloma e a eliminação do bacilo, estando aumentada na tuberculose.<sup>60</sup>

Dosado por técnica de ELISA, com resultado em 2 dias, seu desempenho como teste diagnóstico para a tuberculose pleural é inferior ao rendimento da ADA e do IFN.<sup>43,61</sup> A sensibilidade varia de 50% a

88% e a especificidade, entre 77% a 100%.<sup>42,43,61,62</sup> Os pacientes com derrame infeccioso bacteriano mostram valores de TNF maiores do que o observado no grupo da tuberculose e, em ambos, as médias foram significativamente superiores aos dos derrames não infecciosos.<sup>42,43,65</sup>

### **ELISA para pesquisa de anticorpos**

O sonho de um diagnóstico sorológico para a tuberculose remonta a 1898, com as primeiras experiências utilizando teste de aglutinação, mas, somente após 1972, quando surgiu o método imunoenzimático conhecido como "enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA), de alta sensibilidade, é que foi aplicado mais amiúde no diagnóstico de diversas doenças infecciosas.<sup>64</sup> Pode ser realizado tanto no sangue como em outros líquidos orgânicos, com razoável sensibilidade e boa especificidade.

A sensibilidade desta técnica para a detecção de anticorpos no soro tem relação direta com as características do método empregado, a prevalência da tuberculose na região estudada, a extensão e cronicidade da doença, e a presença de BAAR. Sendo assim, a sensibilidade, oscila entre 60% a 80%, sendo maior nos países em desenvolvimento, onde estas características estão presentes. A especificidade varia de acordo com o antígeno empregado, ficando em torno de 97% a 100%, sendo os valores mais altos alcançados com o emprego de antígenos purificados.<sup>65-67</sup> A pesquisa no líquido pleural tem uma sensibilidade baixa (geralmente inferior à do soro), variando de 23% a 77%, e alta especificidade, em torno de 95%.<sup>68-70</sup>

O método despertou grande interesse, inclusive pela possibilidade de diagnóstico precoce a baixo custo, mas, até o momento, não provou sua auto-suficiência. Pela característica de proporcionar melhores resultados em dosagens séricas, pode vir a ser de grande auxílio nas localizações extrapulmonares da tuberculose e, para isso, investigações continuam sendo realizadas na busca de um antígeno ideal ou da melhor combinação destes.

### **Lisozima**

A lisozima é uma enzima produzida pelos polimorfonucleares (neutrófilos) e pelas células do sistema mononuclear fagocitário (monócitos, macrófagos ativados e granulócitos), estando presente nas células epitelióides dos granulomas, e já tendo sido encontrada em certas células tumorais.<sup>33</sup> Encontra-se elevada em derrames secundário a tuberculose, possivelmente liberada pelos granulomas em atividade, mas também nos empiemas, sarcoidose e nos derrames da artrite reumatóide, além de já ter sido descrito resultado falso positivo em neoplasias e doenças do colágeno.<sup>52</sup>

Pode ser dosada através de um "kit" comercial por imunodifusão radial (Lysoplate®), com resultado obtido em torno de 8 horas, ou por método turbidimétrico.<sup>52</sup> A sensibilidade varia de 66% a 100% e a especificidade está próxima de 62%, dependendo da composição do grupo controle.<sup>52,71</sup> A relação entre a concentração de



lisozima no líquido pleural e no sangue parece ter um melhor desempenho (em torno de 90%) com relação à especificidade, mas não permite diferenciar a tuberculose do empiema.<sup>52</sup>

Tem a desvantagem de ser menos sensível do que a ADA, fato observado em alguns estudos,<sup>52,71</sup> com resultados falsos em casos semelhantes e a necessidade da dosagem no líquido e no sangue.

### **Proteína C reativa**

A proteína C reativa é uma proteína da fase inflamatória aguda, em resposta a diferentes estímulos que causam dano tecidual. Infecções bacterianas constituem o mais potente estímulo para sua geração e o aumento sérico ocorre em poucas horas, após o dano tecidual.<sup>72</sup> Quando o estímulo deixa de ocorrer, a concentração baixa com a mesma rapidez, o que torna sua dosagem mais sensível que outros parâmetros para monitorar a resposta terapêutica nas infecções.<sup>73</sup> Valores que se mantêm elevados, ou que voltam a aumentar durante o tratamento de uma pneumonia, em dosagem seriada, podem ser um sinal de complicação (inclusive desenvolvimento de empiema) ou de falha da terapêutica, com possibilidade de óbito.<sup>73</sup>

É um teste de baixo custo realizado, de rotina, nos laboratórios.<sup>74</sup> A dosagem que fornece resultados quantitativos, em mg/dL, facilitam a interpretação clínica. Existe uma grande variação da proteína C reativa no sangue periférico de pacientes com tuberculose, na dependência da gravidade e localização da doença. Já foram realizados alguns estudos, no líquido pleural, para o diagnóstico da tuberculose; no entanto, a dosagem tem sido mais útil para diagnóstico diferencial entre transudato e exsudato (sensibilidade e especificidade em torno de 85%) e na diferenciação entre o derrame infeccioso, especialmente o parapneumônico, e o secundário a neoplasia.<sup>46,74</sup>

### **Outras**

A  $\beta$ -2-microglobulina é uma proteína presente na membrana de todas as células nucleadas, particularmente nos linfócitos. É a cadeia beta das moléculas da classe I do complexo de histocompatibilidade principal (MHC). Dosada no líquido pleural, pode ser um marcador útil para o diagnóstico de tuberculose desta localização, mas o aumento da casuística é necessário para se estabelecer um limiar de reatividade adequado.<sup>75-77</sup>

A *neopterin* é liberada pelos monócitos e macrófagos, quando estimulados pelo IFN, e reflete a ativação do sistema imune celular.<sup>77</sup> Apesar de já ter sido dosada em líquido pleural e mostrar aumento significativamente maior na tuberculose do que nos derrames neoplásicos, seu uso clínico, na prática, pode apresentar os mesmos problemas, com relação aos falsos positivos, dos enfrentados com a ADA.<sup>77</sup> Valores superiores a 30nmol/l no líquido pleural foram capazes de diferenciar os derrames por tuberculose com uma sensibilidade e especificidade de 85% e 93%, respectivamente.<sup>78</sup>

A expressão de *CD26* pelos linfócitos CD4+ também está relacionada com a produção de citocinas da resposta Th1. A pesquisa de sua fração solúvel aumentou no líquido pleural, mas não no soro, nos derrames por tuberculose e é capaz de diferenciá-los de outras causas. Sua dosagem mostra correlação com o nível de ADA e do IFN no grupo da tuberculose.<sup>79</sup>

Aparentemente, dosagens de *fibronectina*, da *fosfatase alcalina* e do *óxido nítrico* não são úteis para o diagnóstico da tuberculose pleural.<sup>46,63</sup>

A *enzima conversora de angiotensina* (ECA) encontra-se elevada naqueles pacientes com sarcoidose em atividade, sendo útil como critério de atividade da doença no acompanhamento de casos. É pouco específica, podendo estar elevada em outras doenças, especialmente as com formação de granulomas. Sua pesquisa no líquido pleural foi pouco estudada. Encontra-se mais elevada nos exsudatos do que nos transudatos, mas não se mostrou útil como fator discriminante entre derrames malignos e benignos.<sup>80</sup>

A pesquisa do *ácido tuberculoesteárico* (TSA), um lipídeo da membrana presente nas espécies da ordem dos *Actinomycetales* (incluindo as micobactérias), pode ser de alguma utilidade no diagnóstico da tuberculose pulmonar e já foi pesquisada no líquido pleural. Seu custo é elevado e a sensibilidade semelhante à da cultura. No escarro, a sensibilidade e especificidade foram ambas de 90%, enquanto que, em líquido pleural e em lavado bronco-alveolar, a sensibilidade foi de 70%.<sup>46,81</sup>

A CA 125 é uma glicoproteína de alto peso molecular, descrita em 1981, e conhecida como um marcador de carcinoma de ovário. Está elevada no soro de pacientes, tanto do sexo masculino como feminino, com derrame pleural por tuberculose,<sup>82</sup> com sensibilidade de 100% e especificidade de 75%.<sup>51</sup> Não existe correlação entre os valores do sangue e do líquido pleural no grupo de pacientes com tuberculose. A associação deste parâmetro com a ADA mostrou que, quando ambos eram positivos ou negativos, não ocorria classificação incorreta.<sup>51,82</sup>

Podemos concluir que, dentre os novos métodos apresentados, a ADA merece destaque e já vem sendo utilizada, de rotina, em alguns serviços de diversas partes do mundo. O diagnóstico bacteriológico continua sendo importante, pois a tentativa de se isolar o bacilo é justificada pela possibilidade de se realizar testes de suscetibilidade aos antibióticos. Isso é particularmente importante no cenário atual, no qual o número de casos resistentes aos esquemas terapêuticos convencionais vem crescendo. Contudo, a continuidade dos estudos, a diminuição dos custos, o aperfeiçoamento e o melhor controle de algumas das técnicas aqui descritas (como a PCR, a pesquisa de anticorpos pelo ELISA e o IFN) farão com que outras técnicas diagnósticas sejam incorporadas na rotina de investigação da tuberculose pleural, possibilitando uma evolução nos critérios não bacteriológicos de diagnóstico da tuberculose pleural, hoje restritos ao exame histopatológico.

## REFERÊNCIAS

- Heifets L. Dilemmas and realities of rapid diagnostic tests for tuberculosis. *Chest* 2000;118:4-5.
- Ferrer J, Hamm H, Light RW. Pleural tuberculosis. *Eur Respir J* 1997;10:942-7.
- Hasaneen NA, Zaki ME, Shalaby HM, El-Morsi AS. Polymerase chain reaction of pleural biopsy is a rapid and sensitive method for the diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Chest* 2003;124:2105-11.
- Angeby KAK, Werngren J, Toro JC, Hedstrom G, Petrini B, Hoffner SE. Evaluation of the BacT/ALERT 3D system for recovery and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9:1148-52.
- Rom WN, Garay S. Tuberculosis. New York: Little, Brown and Company; 1996.
- Kritski AL, Rossetti ML, Bonfim G, Castelo A, Mello FCQ. Reação em cadeia da polimerase (RCP/PCR) aplicada ao diagnóstico de tuberculose. *J Pneumol* 1997;23(1):33-42.
- Eisenach KD, Crawford JT, Bates JH. Repetitive DNA sequence as probes for *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 1988;26:2240-5.
- Bödinghaus B, Roball T, Flohr T, Blocker H, Bottiger EC. Detection and identification of mycobacteria by amplification of rRNA. *J Clin Microbiol* 1990;28:1751-4.
- Ichiyama S. Evaluation of gen-probe amplified *M. tuberculosis* and Roche PCR microwell plate hybridization method (Amplicor mycobacterium) for direct detection of *M. tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 1996;32:130-3.
- Noordhoek GT, Kolk AH, Bjune G, Catty D, Dale JW, Fine PE, Godfrey-Faussett P, Cho SN, Shinnick T, Svenson SB. Sensitivity and specificity of PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis*: a blind comparison study among seven laboratories. *J Clin Microbiol* 1994;32(2):277-84.
- Kox LFF, Rhienthong D, Medo AM, Udomsantisuk N, Ellis K, Leeuwen F, Heusden S, Kujiper S, Kolk AHJ. A more reliable PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples. *J Clin Microbiol* 1994;32(3):672-8.
- Shamputa IC, Rigouts L, Portaels F. Molecular genetic methods for diagnosis and antibiotic resistance detection of mycobacteria from clinical specimens. *APMIS* 2004; 112:728-52.
- Bayram A, Celiksoz C, Karsligil T, Balci I. Automates PCR Evaluation of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory and nonrespiratory specimens. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2006; 46:48-52.
- Fegou E, Jelastopuluz E, Sevdali M, Anastassiou ED, Dimitracopoulos G, Spiliopoulou I. Sensitivity of the Cobas Amplicor System for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory and extrapulmonary specimens. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11:593-6.
- Hayashi M, Nagai A, Kobayashi K, Sawai T, Konno K. [Utility of polymerase chain reaction for diagnosis of tuberculous pleural effusion] [abstract]. *Nippon-Kyobu-Shikkan-Gakkai-Zasshi* 1995;33(3):253-6.
- Nagesh BS, Sehgal S, Jindal SK, Arora SK. Evaluation of polymerase chain reaction for detection of mycobacterium tuberculosis in pleural fluid. *Chest* 2001;119:1737-41.
- 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.
- Moon JW, Chang YS, Kim SK, Kim YS, Lee HM, Kim SK, Chang J. The clinical utility of polymerase chain reaction for the diagnosis of pleural tuberculosis. *Clin Infect Dis*. 2005 Sep 1;41(5):660-6.
- Kataria YP. Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Chest* 2001;120(2):334-5.
- Roth BJ. Searching for tuberculosis in pleural space. *Chest* 1999;116:3-5.
- Ocaña I, Martínez-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.
- Ocaña I, Martínez-Vázquez JM, Segura RM, Fernández-de-Sevilla T, Capdevila JS. Adenosine deaminase in pleural fluids: a test for diagnosis of tuberculosis pleural effusions. *Chest* 1983;84(1):51-3.
- Ungerer JP, Grobler SM. Molecular forms of adenosine deaminase in pleural effusions. *Enzyme* 1988;40(1):7-13.
- Pérez-Rodríguez E, Walton JJP, Hernández JJS, Pallares E, Rubi J, Castro DJ, et al. ADA1/ADA<sub>p</sub> ratio in pleural tuberculosis: an excellent diagnostic parameter in pleural fluid. *Respir Med* 1999;93:816-21.
- Grevo S, Girardi E, Masciangelo R, Capocchetta GB, Saltini C. Adenosine deaminase and interferon gamma measurements for the diagnosis of tuberculous pleurisy: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003;7(8):777-86.
- Cruz E, Pinto E, Serrat H, Pertuze J, Pino G. Adenosin Deaminasa (ADA) en líquido pleural: valor para la identificación de la etiología tuberculosa. *Enferm Respir Cir Torac* 1987;3(1):176-81.
- I Consenso Brasileiro de Tuberculose. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. *J Pneumol* 1997;23(6):281-342.
- Castelo Filho A, Kritski AL, Barreto AW, Lemos ACM, Netto AR, Guimarães CA et al. II Consenso Brasileiro de Tuberculose: Diretrizes Brasileiras para Tuberculose 2004. *J Bras Pneumol* 2004; 30(1):S57-86.
- Ungerer JP, Oosthuizen HM, Retief JH, Bissbort SH. Significance of adenosine deaminase activity and its isoenzymes in tuberculous effusions. *Chest* 1994;106(1):33-7.
- Valdes L, Alvarez D, San Jose E, Penela P, Valle JM Garcia-Pazos JM, Suarez J, et al. Tuberculous pleurisy: a study of 254 patients. *Arch Intern Med* 1998;158(18):2017-21.
- 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.
- Gakis C. Adenosine deaminase (ADA) isoenzymes ADA1 and ADA2: diagnostic and biological role. *Eur Respir J* 1996;9:632-3.
- Valdes L, San Jose E, Alvarez D, Valle JM. Adenosine deaminase (ADA) isoenzyme analysis in pleural effusions: diagnostic role, and relevance to the origin of increased ADA in tuberculous pleurisy. *Eur Respir J* 1996;9(4):747-51.
- Kataria YP. Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Chest* 2001;120(2):334-5.
- Valdes L, San-Jose E, Alvarez D, Sarandeses A, Pose A, Chomon B, et al. Diagnosis of tuberculous pleurisy using the biologic parameters adenosine deaminase, lysozyme, and interferon gamma. *Chest* 1993;103(2):458-65.
- Hsu WH, Chiang CD, Huang PL. Diagnostic value of pleural adenosine deaminase in tuberculous effusions of immunocompromised hosts. *J Formos Med Assoc* 1993;92(7):668-70.
- Pérez-Rodríguez E, Castro DJ. The use of adenosine deaminase and adenosine deaminase isoenzymes in the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Curr Opin Pulm Med* 2000;6:259-66.
- Aoki Y, Katoh O, Nakanishi Y, Kuroki S, Yamada H. A comparison study of IFN- $\gamma$ , ADA, and CA125 as the diagnostic parameters in tuberculous pleuritis. *Respir Med* 1994;88(2):139-43.
- 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.
- Pettersson T, Ojala K, Weber TM. Adenosine deaminase in the diagnosis of pleural effusions. *Acta Med Scand* 1984;215:299-304.
- Kim YC, Pak KO, Bom HS, Lim SC, Na HJ, Park JH. Combining ADA, protein and IFN- $\gamma$  best allow a discrimination between tuberculous and malignant pleural effusion [abstract]. *Korean J Intern Med* 1997;12(2):225-31.
- Ogawa K, Koga H, Hirakata Y, Tomono K, Tashiro T, Kohno S. Differential diagnosis of tuberculous pleurisy by measurement of cytokine concentrations in pleural effusion. *Tuber Lung Dis* 1997;78(1):29-34.
- Naito T, Ohtsuka M, Ishikawa H, Satoh H, Hasegawa S. [Clinical significance of cytokine in pleural effusion] [abstract]. *Kekkaku*

- 1997;72(10):565-72.
44. Aviles Ingles MJ, Contessotto C, Ontanon J, Muro M, Berlinches P, de la Torre J, Sanchez Gascon F, Alvarez Lopez MR. [Comparative study of soluble interleukine 2 receptor and adenosine deaminase levels in tuberculous and other etiologies pleural fluis]. *Arch Broncoemol* 1996;32(10):523-6.
  45. Ito M, Kojiro N, Shirasaka T, Moriwaki Y, Tachibana I, Kokubu T. Elevated levels of soluble interleukin-2 receptors in tuberculous pleural effusions. *Chest* 1990;97(5):141-3.
  46. Peces EA, Alonso JLI, Iglesias JAS. Utilidad de los marcadores biológicos en el derrame pleural. *Rev Clin Esp* 1996;196(2):107-12.
  47. Lee MK, Park SK, Kim YS, Lee HJ. IL-12, IL-10, IFN-gamma in tuberculosis pleural effusion. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157(3):A577.
  48. Okamoto M, Hasegawa Y, Hara T, Hashimoto N, Imaizumi K, Shimokata K, Kawabe T. T-Helper Type 1/T-Heppler Type 2 Balance in Malignant Pleural Effusions Compared to Tuberculous Pleural Effusions. *Chest* 2005; 128:4030-5.
  49. Qin XJ, Shi HZ, Huang ZX, Kang LF, Mo WN, Wu C. Interleukin-16 in tuberculous and malignant pleural effusions. *Eur Respir J* 2005;25(4):605-11.
  50. Ribera E, Ocana I, Martinez-Vazquez JM, Rossell M, Espanol T, Ruibal A. High level of interferon gamma in tuberculous pleural effusion. *Chest* 1988;93(2):308-11.
  51. Aoki Y, Katoh O, Nakanishi Y, Kuroki S, Yamada H. A comparison study of IFN-gamma, ADA, and CA125 as the diagnostic parameters in tuberculous pleuritis. *Respir-Med* 1994;88(2):139-43.
  52. Valdes L, San-Jose E, Alvarez D, Sarandeses A, Pose A, Chomon B, Alvarez-Dobano-JM, Salgueiro M, Rodriguez-Suarez SO. Diagnosis of tuberculous pleurisy using the biologic parameters adenosine deaminase, lysozyme, and interferon gamma. *Chest* 1993;103(2):458-65.
  53. S'nderblom T, Nyberg P, Teppo AM, Klockars M, Riska H, Pettersson T. Pleural fluid interferon-gamma and tumour necrosis factor-alpha in tuberculous and rheumatoid pleurisy. *Eur Respir J* 1996;9(8):1652-5.
  54. Blanco-Vaca F, Pérez MM, Domínguez CP, Gerique JAG, Gil JR, Mir RC, Sastre FG. Análisis de la adenosina desaminasa y sus subfracciones como parámetro diagnóstico del derrame pleural tuberculoso. *Rev Clin Esp* 1989;184(1):7-11.
  55. Wongtim S, Silachamroon U, Ruxrungtham K, Udompanich V, Limthongkul S, Charoenlap P, Nuchprayoon C. Interferon gamma for diagnosing tubeuculous pleural effusions. *Thorax* 1999;54:921-4.
  56. Villena V, López-Encuentra A, Echave-Sustaeta J, Martín-Escribano P, Ortuno-de-Solo B, Estenoz-Alfaro J. Interferon-gamma in 388 immunocompromised and immunocompetent patients for diagnosing pleural tuberculosis. *Eur Respir J* 1996;9(12):2635-9.
  57. Valdes L, Alvarez D, San Jose E, Penela P, Valle JM Garcia-Pazos JM, Suarez J, Pose A. Tuberculous pleurisy: a study of 254 patients. *Arch Intern Med* 1998;158(18):2017-21.
  58. Hooks JJ, Moutsopoulos HM, Geis AS, Stahl NI, Decker JL, Notkins AL. Immune interferon in the circulation of patients with autoimmune disease. *N Engl J Med* 1979;301:5-8.
  59. Light RW. Estabilishing the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Arch Intern Med* 1998;158:1967-8.
  60. Barnes PF, Fong SJ, Brennan PJ, Twomey PE, Mazumder A, Modlin RL. Local production of tumor necrosis factor and IFN-gamma in tuberculous pleuritis. *J Immunol* 1990;145(1):149-54.
  61. Marino GC, Silva Jr CT, Antunes LV, Reis Filho RF, Silva DT, Verbicário LPS. Expressão do fator alfa de necrose tumoral (alfa-TNF) e da adenosina desaminase (ADA) na síndrome do derrame pleural. *J Pneumol* 1998;24(51):144.
  62. Gursel G, Gokçora N, Elberg S, Samurkasoglu B, Ekim N. Tumour necrosis factor - alpha (TNF-a) in pleural fluid. *Tubercle and Lung Dis* 1995;76(4):370-1.
  63. Hamed EA, El-Noweihi AM, Mohamed AZ, Mahmoud A. Vasoactive Mediators (VEGF and TNF-a) in patients with malignant and tuberculous pleural effusions. *Respirology* 2004; 9:81-6.
  64. Nassau E, Parsons ER, Johnson GD. The detection of antibodies to Mycobacterium tuberculosis by microplate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Tubercle* 1976;57:67-70.
  65. Verbon A, Weverling GJ, Kuijper S, Speelman P, Jansen HM, Kolk AHJ. Evaluation of different tests for the serodiagnosis of tuberculosis and the use of likelihood ratios in serology. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:378-84.
  66. Conde MB, Perkins MD, Oliveira JR, Kritski AL. O diagnóstico sorológico da tuberculose (TB) usando um rápido e simples método multi-antigênico. *J Pneumol* 1998;24(5-1):154.
  67. Turneer M, Van Vooren JP, Bruyn J, Serruys E, Dierckx P, Vernault JC. Humoral immune response in human tuberculosis: immunoglobulins G, A, and M directed against the purified P32 protein antigen of Mycobacterium bovis Bacillus Calmette-Guérin. *J Clin Microbiol* 1988;26(9):1714-9.
  68. Murate T, Mizoguchi K, Amano H, Shimokata K, Matsuda T. Antipurified-protein-derivative antibody in tuberculous pleural effusions. *Chest* 1990;97:970-3.
  69. Sales LHM, Andrade G, Kritski A, Rabahi MF, Bravo de Souza R, Neves DD, Medeiros MA, Fonseca LS. Teste ELISA com antígeno PPD para o diagnóstico da tuberculose pleural. *J Pneumol* 1990;16(S1):90.
  70. Kunter E, Cerrahoglu K, Ilvan A, Isitmangil T, Turken O, Okutani O, Kartaloglu Z Cavuslu S. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9:212-20.
  71. Villena V, Navarro-González JA, Garcia-Benayas C, Manzanos JA, Echave J, Lopez-Encuentra A, Arenas Barbero J. Rapid automated determination of adenosine and lysozyme for differentiating tuberculous and nontuberculous pleural effusions. *Clin Chem* 1996;42(2):218-21.
  72. Okamura JM, Miyagi JM, Terada K, Hokama Y. Potential Clinical applications of C-reactive protein. *J Lab Analys* 1990;4:231-5.
  73. Smith RP, Lipworth BJ, Cree IA, Spiers EM, Winter JH. C-reactive Protein. A clinical marker in community acquired pneumonia. *Chest* 1995;108:1288-91.
  74. Yilmaz Turay U, Yildirim Z, Turkoz Y, Biber C, Erdogan Y, Keyf AI, Ugurman F, Ayaz A, Ergun P, Harputluoglu Y. Use of pleural fluid C-reactive protein in diagnosis of pleural effusions. *Respir Med* 2000;94(5):432-5.
  75. Pessôa CLC, Silva Jr CT, Behrsin RF, Marino GC, Rios MGB, Verbicário LPS. Expressão da beta-2-microglobulina (beta-2-M) na síndrome do derrame pleural. *J Pneumol* 1998;24(51):145.
  76. Tamura S, Nishigaki T, Moriwaki Y, Fujioka H Nakano T, Fujii J, Yamamoto T, Nabeshima K, Hada T, Higashino K. Tumor markers in pleural effusion diagnosis. *Cancer* 1988;61(2):298-302.
  77. Hosp M, Elliott AM, Raynes JG, Mwinga AG, Luo N, Zangerle R, Pobee JO, Wachter H, Dierich MP, McAdam KP, Fuchs D. Neopterin, beta 2-microglobulin, and acute phase proteins in HIV-1 seropositive and seronegative Zambian patients with tuberculosis. *Lung* 1997;175(4):265-75.
  78. Tozkoparan E, Deniz O, Cakir E, Yaman H, Ciftci F, Gumus S, Ozcan O, Akgul OE, Bilgic H, Erbil K, Ekiz K. The diagnostic values of serum, pleural fluid and urine neopterin measurements in tuberculous pleurisy. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2005;9(9):1040-5
  79. Oshikawa K, Sugiyama Y. Elevated soluble CD26 levels in patients with tuberculous pleurisy. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001;5(9):868-72.
  80. Bedrossian CWM, Stein DA, Miller WC, Woo J. Levels of angiotensin-converting enzyme in pleural effusion. *Arch Pathol Lab Med* 1981;105:345-6.
  81. Muranishi H, Nakashima M, Ando T, Shigematsu N Isobe R. [Basic and clinical evaluation of rapid diagnosis of tuberculosis by detecting tuberculostearic acid] [abstract]. *Kekkaku* 1990;65(1):39-42.
  82. Nakanishi Y, Hiura K, Katoh O, Yamaguchi T, Kuroki S, Aoki Y, Yamada H. [Clinical significance of serum CA125 in patients with tuberculous pleurisy] [abstract]. *Kekkaku* 1991;66(8):525-30.