

**Utilização de adenosina desaminase como
biomarcador de tuberculose pleural na
população de doentes da Beira Interior**

**Análise de variáveis confundentes e determinação
de valor de corte ajustado às características da
população em estudo**

Lígia Catarina Ribeiro Barbosa

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(mestrado integrado)

Orientador: Mestre em Medicina Luís Vaz Rodrigues

Maio de 2020

Folha em branco

Resumo

O doseamento de adenosina desaminase no líquido pleural tem sido largamente estudado como um biomarcador de tuberculose pleural. As suas características operacionais são influenciadas por diversos fatores, nomeadamente a incidência regional de tuberculose.

Para o caso de Portugal, um estudo de 2014, para uma incidência de tuberculose de 25/100.000 habitantes, determinou o valor *cut-off* de adenosina desaminase no líquido pleural de 40.5 UI/L (sensibilidade 95.24%, especificidade 91.95%). Desde 2016 a incidência de tuberculose em Portugal decresceu para um valor inferior a 20/100.000 habitantes e não foi publicado até então nenhuma atualização dos valores *cut-off* de adenosina desaminase no líquido pleural.

O objetivo principal deste trabalho é determinar o melhor valor *cut-off* da adenosina desaminase no líquido pleural para uma população cohort, portuguesa, diagnosticada com tuberculose pleural após 2016.

Foi realizado um estudo transversal retrospectivo baseado na consulta de processos clínicos de todos os pacientes que realizaram o doseamento da adenosina desaminase no líquido pleural no período de tempo compreendido entre novembro de 2016 e dezembro de 2018. Foram recolhidos dados demográficos, dados acerca do tipo de derrame pleural e acerca do diagnóstico final. Os derrames transudados e as amostras repetidas foram excluídas.

A análise estatística inferencial foi realizada com base numa regressão logística e uma *Receiver Operator Curve* considerando uma significância de 5%, com recurso ao *Software Statistical Package for Social Science*, versão 23 e o MedCalc® versão 19.1.3.

De um total de 200 pacientes, foram incluídos 136 com derrame pleural exsudativo. Os pacientes eram maioritariamente homens (60.3%) e a media de idades foi de 70.4 anos. 10 tinham o diagnóstico final de tuberculose pleural, 54 tinham derrames infecciosos, 45 tinham derrames malignos e 27 tinham derrames de outras etiologias.

Area under receiver operator curve foi de 0.808 para um valor *cut-off* de 24.9UI/L, com sensibilidade 70% e especificidade de 87% ($p=0.001$). Quando considerados valores alternativos de 35 e 40 UI/L, a sensibilidade/especificidade foram de 40%/90% e 10%/92%, respetivamente.

Para a nossa amostra, o valor que apresentava o melhor perfil de sensibilidade e especificidade foi 24.9 UI/L.

Estes resultados sublinham a necessidade de repensar este valor *cut-off* para a nossa população dado que se deixariam por diagnosticar 9 dos 10 pacientes com tuberculose pleural.

Palavras-chave

Adenosina desaminase; Biomarcador; Derrame pleural; Líquido pleural; Tuberculose, Tuberculose pleural;

Abstract

Pleural fluid adenosine deaminase has been thoroughly studied as a valuable marker of pleural tuberculosis. Nevertheless, its operational characteristics are influenced by different factors, namely the regional incidence of tuberculosis.

In Portugal, a paper from 2014 (tuberculosis incidence 25/100.000) has set the cut-off value of pleural fluid adenosine deaminase at 40.5 IU/L (sensitivity 95.24%; specificity 91.95%). Since 2016 the incidence of tuberculosis in Portugal has decreased to less than 20/100.000 and no updates of pleural fluid adenosine deaminase have been published.

The main goal of this work is to ascertain the best possible cut-off value for pleural fluid adenosine tuberculosis in a Portuguese pleural tuberculosis cohort population, diagnosed after 2016.

We conducted a cross sectional retrospective study based on the consultation of the clinical records of all patients who performed pleural fluid adenosine deaminase (November 2016 to December 2018). Data on demographics, type of pleural effusion and final diagnosis was collected. Transudative and repeated samples were excluded. Inferential analysis was performed with logistic regression and ROC curve considering a significance of 5%, using the software *Software Statistical Package for Social Science* version 23 and MedCalc® v 19.1.3.

From a total of 200 patients we included 136 with exudative pleural effusions. Patients were mainly male (60.3%) with mean age of 70.4 (+15.65) years. Of total, 10 had a final diagnosis of pleural TB, 54 infectious effusions; 45 malignant pleural effusions and 27 had other diagnosis. Area under receiver operator curve was 0.808 for a cut-off value of 24.9 U/L [sensitivity 70%; specificity 87% (p=0.001)]. When considering the alternative cut-off values of 35 and 40 UL/L the sensitivity/specificity was 40%/90% and 10%/92%, respectively.

In our sample the best possible cut-off value of pleural fluid adenosine deaminase was 24.9U/L. Our results highlight the need to rethink this cut-off in our population, since the current proposed limit would have left undiagnosed 9 out of 10 patients with pleural tuberculosis.

Keywords

Adenosine deaminase; Biomarker; Pleural effusion; Pleural fluid; Tuberculosis; Pleural tuberculosis;

Índice

Resumo	iii
Palavras-chave	iv
Abstract	v
Keywords	vi
Lista de Figuras	viii
Introdução	1
1.1 Tuberculose	1
1.1.1 Agente Etiológico	1
1.1.2 Epidemiologia	1
1.1.3 Fisiopatologia	4
1.1.4 Manifestações Clínicas	7
1.2 Tuberculose Pleural	8
1.3 Adenosina Desaminase	11
Objetivo	14
Materiais e Métodos	15
3.1 Análise Estatística	15
3.1.1 Métodos Estatísticos	15
Resultados	16
Discussão	21
Bibliografia	24

Lista de Figuras

Figura 1. Características do líquido pleural da amostra em estudo	17
Figura 2. Análise comparativa entre doentes com tuberculose pleural e doentes com outros diagnósticos em relação às diferenças das características idade e das características do líquido pleural	18
Figura 3. Análise comparativa entre os doentes com TB pleural e os doentes com outros diagnósticos, em relação às diferenças das características demográficas	18
Figura 4. Valores <i>cut.off</i> do ADA e os respetivos valores de sensibilidade e especificidade para a amostra do estudo	19
Figura 5. Análise AUC-ROC para a amostra	19
Figura 6. Teste de correlação de Spearman, entre o valor do ADA (UI/L) e as restantes variáveis do estudo	20

Lista de Acrónimos

TB	Tuberculose
Mt	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana
TB-RR	Tuberculose Resistente à Rifampicina
TB-MDR	Tuberculose Multirresistente
MDG	<i>Millenium Development Goal</i>
IFN gama	Interferão Gama
LP	Líquido Pleural
LDH	Lactato Desidrogenase
ADA	Adenosina Desaminase
S	Sensibilidade
E	Especificidade
VPN	Valor Preditivo Negativo
VPP	Valor Preditivo Positivo
ULS	Unidade Local de Saúde
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
UMA	Unidades Maço Ano
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica
SAOS	Síndrome Apneia Obstrutiva do Sono
HTP	Hipertensão Pulmonar
SOH	Síndrome Obesidade Hipoventilação
DM	Diabetes <i>Mellitus</i>
DRC	Doença Renal Crónica
TEP	Tromboembolismo Pulmonar
DP	Desvio Padrão
AUC ROC	<i>Area Under Curve Receiver Operator Curve</i>
IC	Intervalo de Confiança

Introdução

1.1 Tuberculose

1.1.1 Agente Etiológico

A tuberculose (TB) é uma doença infetocontagiosa provocada por microorganismos pertencentes ao complexo *Mycobacterium tuberculosis complex*, que se inserem na família Mycobacteriaceae e na ordem Actinomycetales. O complexo *Mycobacterium tuberculosis complex* compreende 8 subgrupos distintos: *M. africanum*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, *M. orygis*, *M. microti*, *M. canetti* e *M. tuberculosis* (Mt).

Este último é responsável pela parte mais significativa dos casos de doença em humanos. É um bacilo de dimensões 0,5x3 nm, aeróbio e não formador de esporos. A sua parede celular é constituída por ácido micólico, um composto lipídico de cadeias longas de ácidos gordos livres, arabinogalactanos, peptidoglicanos e lipoarabinomanano. Estes constituintes tornam a parede da micobactéria pouco permeável, o que reduz a eficácia da maioria dos antibióticos. O lipoarabinomanano, mais especificamente, confere uma maior resistência do Mt quando interage com os macrófagos do sistema imunitário do hospedeiro. Em virtude dos compostos da parede celular, é um microorganismo álcool-ácido resistente, o que significa que não é corado pela coloração de Gram.

1.1.2 Epidemiologia

A TB é uma preocupação mundial, sendo uma das 10 principais causas de morte.

Para o ano de 2018, a Organização Mundial de Saúde (OMS) reportou, um total estimado de 10.0 milhões de novos casos (variando de 9.0-11.0 milhões). A incidência da doença tem uma grande amplitude conforme as regiões a considerar, variando de 5 até 500 novos casos por cada 100.000 habitantes, sendo a média estimada de 130/100.000 habitantes.¹

A mortalidade por TB, no grupo de doentes VIH negativos, foi de aproximadamente 1.2 milhões de mortes (variando de 1.1-1.3 milhões), implicando uma redução de 27% em relação ao ano de 2000. No grupo de doentes VIH positivos, verificou-se um total aproximado de 251000 mortes (223000-281000 mortes), implicando uma redução de 67% em relação ao ano 2000.¹

A TB tem uma distribuição ubiqüitária em relação ao gênero e à idade. Em 2018, 57% dos casos de TB ocorreram em homens com idade superior a 15 anos, 32% em mulheres e 11% em crianças com idade inferior a 15 anos. O rácio de homem:mulher foi de 2:1. Do total, 8,6% evidenciavam coinfeção com VIH. ¹

A maioria dos casos de TB foram registados no Sudeste Asiático (44%), Africa (24%) e no Pacífico Ocidental (18%). No Mediterrâneo Oriental registaram-se 8% dos casos, 3% na América e 3% na Europa. Dois terços da globalidade de casos, ocorreram em apenas 8 países: Índia (27%), China (9%), Indonésia (8%), Filipinas (6%), Paquistão (6%), Nigéria (4%), Bangladesh (4%) e África do Sul (3%).¹

Foram notificados cerca de 500.000 novos casos de TB resistente à rifampicina, dos quais 78% apresentavam multirresistência (rifampicina + isoniazida). Destes, 27% ocorreram na Índia, 14% na China e 9% na Federação da Rússia. De uma forma geral, 3,4% da totalidade de novos casos e 18% de TB previamente tratadas apresentaram-se como resistentes à rifampicina (RR-TB) ou multirresistentes (MDR-TB).¹

Durante a década de 80 e 90, os países industrializados registaram um aumento significativo nas taxas de incidência de TB, que se relacionou com a deterioração das condições sociais: fluxos migratórios com origem em países com elevada incidência da doença, epidemia de VIH, aumento dos problemas relacionados com o consumo de substâncias ilícitas, condições habitacionais insalubres e deterioração dos sistemas de saúde e prevenção da doença. No entanto, desde o ano de 2000, tem havido uma tendência decrescente da incidência de TB a nível mundial, explicada pela melhoria das condições sociais, melhoria do acesso e dos serviços de saúde, inerentemente associado ao desenvolvimento científico das últimas décadas. Em média, verificou-se uma taxa de decréscimo de incidência de TB de cerca de 1,6% por ano, no período compreendido entre 2000-2018. ¹

Desde 2000 até 2015, os esforços mundiais desenvolvidos no sentido de reduzir a carga da doença centraram-se no cumprimento dos objetivos definidos nos Objetivos de Desenvolvimento do Milénio (*Millennium Development Goals-MDG's*). Em 2006 a Organização Mundial de Saúde desenvolveu um plano estratégico de abordagem à TB: “*Stop TB Strategy*”, com base nos objetivos “*to “halt and reverse” TB incidence*” do MDG's e nos objetivos propostos pela *TB Partnership “to halve TB prevalence and TB mortality rates by 2015 compared with their levels in 1990”*, viável até 2015. ¹

Os novos objetivos dos esforços mundiais, locais e regionais, propostos para o período 2016-2035, têm por base a ambição de erradicar a epidemia da TB, no contexto do definido pela agenda para o Desenvolvimento Sustentável das Nações Unidas e pela “*End TB Strategy*” proposta pela OMS. O MDG nº3 prevê a erradicação da TB até ao

ano de 2030. O “*End TB Strategy*” propõe objetivos intermédios para o ano de 2020 e para o ano de 2025 e objetivos finais para o ano de 2030 e 2035 no que diz respeito à redução nas taxas de incidência e nas taxas de mortalidade. Espera-se que em 2020, ocorra uma redução de 35% na mortalidade por TB e 20% na taxa de incidência e que em 2030 ocorra uma redução de 90% do total de mortes por TB e uma redução de 80% nas taxas de incidência de TB, comparativamente aos apurados para o ano de 2015.¹

Estes objetivos foram firmados em 2018, no seguimento da primeira conferencia ministerial sobre TB, organizada pela OMS e pelo Governo da Rússia, da qual resultou uma declaração política, que reiterou os compromissos já assumidos anteriormente, adicionando novos: tratar 40 milhões de doentes no período 2018-2022; atingir o número de 30 milhões de doentes com tratamento preventivo para a TB latente no mesmo período; mobilizar o mínimo de 13 biliões de dólares anualmente, aplicados na melhoria do acesso e dos meios de diagnóstico, tratamento e cuidado dos doentes com TB; e mobilizar o mínimo de 2 biliões de dólares anualmente, financiando a pesquisa científica acerca desta doença.¹

Globalmente, a taxa de incidência da TB tem vindo a decrescer. A taxa de declínio da mesma, para o período de 2000-2018 foi de 1,6% por ano. A redução cumulativa verificada no período de tempo 2015-2018 foi de apenas 6,3%, estando bastante distante do objetivo proposto de redução de 20% entre 2015-2020.¹

A taxa de mortalidade decresceu 11% desde 2015-2018, sendo também inferior a um terço do decréscimo perspetivado pelo objetivo de redução de 35% da mortalidade em 2020.¹

Em Portugal, a tuberculose é também uma das dez principais causas de morte.² Dados preliminares relativos ao ano de 2018 demonstram uma incidência de TB de 16,6 novos casos por cada 100.000 habitantes, encontrando-se em decréscimo continuo durante o último quinquénio a uma taxa de 5,4% por ano. Na população infantil, com idade inferior a 5 anos, a taxa de incidência foi de 6,59/100.000, foram notificados 34 casos de tuberculose em crianças com idade inferior a 6 anos.²

Apesar disso, o país apresenta uma grande heterogeneidade em relação aos valores de incidência. Segundo os dados resultantes das notificações de doença, Porto e Lisboa apresentam as taxas mais elevadas, 25,3/100.000 e 23,7/100.000, respetivamente. No total, a idade mediana dos doentes foi de 49 anos.²

Ao contrário do que se verifica na maioria dos países da Europa, a maior parte dos casos de TB em Portugal ocorrem em indivíduos nativos, apesar de se verificar uma

tendência crescente nos casos de TB em indivíduos nascidos fora do país. Em 2017 era de 19.2% e em 2018 20.2%.²

De facto, para o período 2008-2012, Franco *et al* relataram uma desaceleração da diminuição da incidência de TB em Portugal, que acompanhou uma tendência geral da Europa, explicada pela crise económica e social instalada. Em relação às regiões do País com maior incidência de TB, verificaram que o Porto apresentava uma taxa de desemprego mais elevada, o que potenciava a precariedade das condições sociais, Lisboa era um importante ponto de entrada de imigrantes vindos especialmente da África Subsariana.³

Em 2018 verificou-se que 8,8% dos doentes com TB se apresentavam co infetados com VIH. ²

Em relação aos casos de TB multirresistente, houve uma diminuição progressiva do número de casos, diminuindo de 22 casos em 2017 para 7 casos em 2018, como resultado da estratégia de concentração dos doentes em Centros de Referência de Tuberculose Multirresistente. ²

A taxa de mortalidade por TB foi de 2,2/100.000 habitantes, tendo aumentado em relação a 2017 (1,8/100.000). ²

No que concerne à situação epidemiológica na Beira Interior, Soares, num estudo longitudinal, retrospectivo e descritivo de 2014 identificou, para o período de tempo compreendido entre 2003 e 2012, 490 casos de tuberculose pulmonar, sendo o rácio H:M 2,7:1, num total de 357 homens e 133 mulheres. A incidência de TB na Beira Interior foi de 5,9/100.000 habitantes, enquanto que, para o mesmo período, a incidência de TB em Portugal foi de 17,5/100.000 habitantes. ⁴

Apenas 12 casos apresentavam coinfeção com o VIH, sendo que 131 tinham serologias desconhecidas. No ano de 2011 e 2012, registou-se o óbito de 5 indivíduos por tuberculose pulmonar.⁴

1.1.3 Fisiopatologia

A transmissão do Mt ocorre principalmente por inalação de partículas aerossolizadas contaminadas, libertadas por um doente em fase de contágio, através da tosse, espirros ou fala. Cada aerossol pode conter até cerca de 300 partículas de material infeccioso. As partículas de maiores dimensões vão ficar retidas na nasofaringe, enquanto que as de dimensões compreendidas entre 5-10nm de diâmetro têm a capacidade de atingir as vias respiratórias inferiores e causar doença e correspondem a menos de 10% do total inalado. ⁵

A transmissão e posterior aquisição do Mt é influenciada por fatores exógenos como a duração e intimidade do contacto, a virulência do agente, o grau de infecciosidade do doente e o ambiente em que ocorre a exposição. A presença em locais mal ventilados e sobrelotados é um fator de risco importante na transmissão da doença, porque aumenta a intensidade do contacto, favorecendo-a.⁵

Pacientes com o bacilo detetável na microscopia da expectoração têm mais probabilidade de transmitir a infeção. Os doentes mais contagiosos são aqueles que apresentam TB com lesões pulmonares cavitárias ou TB laríngea, sendo esta pouco comum. Apesar dos doentes com microscopia da expectoração negativa para Mt serem menos contagiosos, estes podem também transmitir doença. Estudos realizados nos Estados Unidos demonstram que estes são responsáveis por cerca de 20% dos contágios. Os doentes com TB pulmonar e extrapulmonar, mas com culturas para Mt negativas são considerados não infetantes.⁵

Desde o momento da infeção até ao seu correto diagnóstico e tratamento, estima-se que possam ser estabelecidos 20 contactos, considerando regiões com elevada prevalência.⁵

Após a aquisição do Mt, o posterior desenvolvimento de infeção está dependente de fatores endógenos como a idade, comorbilidades e o estado imunológico do indivíduo.^{5,6,7}

Quando o Mt alcança os alvéolos pulmonares, é fagocitado pelos macrófagos alveolares circulantes, através da ligação das moléculas da parede celular do bacilo aos recetores de superfície dos macrófagos, nos quais se inclui os recetores do complemento. O complemento potencia este fenómeno, através da opsonização do material infetante. Forma-se um fagossoma, que irá ajudar a destruir o material recém fagocitado, através da sua fusão com o lisossoma e subsequentes fenómenos de acidificação.⁵

Uma vez dentro do fagossoma, o Mt irá inibir a produção de fosfatidilinositol-3-fosfato, responsável por sinalizar os fagossomas que deverão maturar e formar uma fagolisossoma. Por outro lado, a interação específica dos lipoarabinomananos da parede do Mt com o fagossoma irá inibir o aumento do cálcio intracelular, necessário para que ocorra a fusão. Desta forma, não irá formar-se o fagolisossoma, impedindo-se o processo de autofagia que iria destruir a micobactéria.⁵

Dentro do fagossoma intacto, os bacilos irão iniciar um processo de replicação, atingindo números tão elevados que condicionam a rotura do macrófago e a libertação do conteúdo para os tecidos. As micobactérias recém-libertadas vão dar continuidade à

evolução e disseminação do processo infeccioso através do recrutamento de outros macrófagos e do contacto das células dendríticas com os bacilos.⁵

As células dendríticas vão migrar pelos vasos linfáticos, apresentando os antígenos das micobactérias aos linfócitos T, elicitando uma resposta imunológica celular e humoral.

Cerca de 2 a 4 semanas após o início da infeção, existem dois processos de resposta desencadeados pelo organismo: mediado pelos linfócitos T e resposta de dano tecidual. O primeiro é crítico na contenção do foco nos seus estádios iniciais. Os linfócitos T, estimulados pelos antígenos das micobactérias, vão libertar citocinas que recrutarão outros macrófagos para o local da infeção. Estes vão agregar-se em torno da lesão, neutralizando os bacilos e limitando o dano tecidual circundante através de uma reação granulomatosa, com formação de tecido fibroso, deixando no centro o material necrótico – tuberculoma com necrose caseosa. Dentro desta lesão, os bacilos podem continuar viáveis, apesar de inativos. As citocinas libertadas neste processo, especialmente o IFN gama, são responsáveis pela formação de espécies reativas de oxigénio e de nitrogénio, bem como pelas manifestações sistémicas da infeção.^{5,7}

A resposta de dano tecidual é intensificada quando a resposta dos macrófagos se encontra enfraquecida e ao contrário desta, favorece a destruição do tecido pulmonar. Ocorre uma reação de hipersensibilidade tardia aos antígenos do Mt, com disseminação do foco inicial para o parênquima contíguo, com invasão dos brônquios e de vasos sanguíneos. Formam-se lesões designadas por cavitações. O material caseoso do centro da lesão, com abundância de bacilos ativos, sofre liquidificação, passando a ser drenado através dos brônquios. Os macrófagos facilitam a disseminação deste material através da via linfo-hematogénea, permitindo o acesso dos bacilos a todo o organismo, promovendo o desenvolvimento de lesões semelhantes às pulmonares. A maioria do material infetado é eliminado do organismo através de manobras expiratórias, como a tosse e a fala. O doente entra em fase bacilífera.⁵

Esta reação de hipersensibilidade motiva a positividade da prova tuberculínica durante esta fase assintomática da doença. A inoculação intradérmica de tuberculina, uma proteína purificada, atrai ao local os linfócitos T previamente sensibilizados, originando uma reação de hipersensibilidade, posteriormente avaliada de acordo com o diâmetro da reação cutânea formada.⁵

O balanço entre estes dois mecanismos vai definir o curso da doença.

A doença clinicamente evidente após a infeção é classificada como TB primária. Afeta principalmente crianças e imunocomprometidos. Apesar de poder ser severa e disseminada, não está associada a níveis elevados de contagiosidade.⁵

Quando a aquisição de infeção ocorre em idades mais tardias, o sistema imunitário é mais eficiente, o que facilita a contenção da infeção. Contudo, os bacilos podem ficar latentes e sofrer reativações até anos após, originando TB secundária ou pós-primária. A TB secundária origina mais frequentemente cavitações. É por isso mais contagiosa que a TB primária. Até 10% dos infetados irão desenvolver TB secundária, normalmente no decorrer de depressões do estado imunitário e destes, mais de 50% ocorrerá nos 18 meses seguintes.⁵

O principal fator de risco que concorre para o desenvolvimento de doença ativa é a coinfeção com VIH (que afeta a eficácia do sistema imunitária por infeção e destruição dos linfócitos TCD4+, envolvidos na resposta imunitária à TB).^{5,6,7}

1.1.4 Manifestações Clínicas

A TB pode ser classificada, quanto às suas manifestações clínicas em TB pulmonar e TB extrapulmonar.

A TB pulmonar é por sua vez classificada em relação à infeção primária ou infeção pós-primária.

A doença primária ocorre pouco tempo após o contacto com o bacilo e acomete, principalmente, os lobos pulmonares inferiores e médios. Pode apresentar-se de forma assintomática ou com febre e dor pleurítica. A lesão calcificada formada inicialmente, denominado foco de Ghon pode fazer acompanhar-se de uma linfadenopatia hilar ou paratraqueal, visível nos exames de imagem, formando o complexo de Ghon. Alguns pacientes desenvolvem eritema nodoso, ou conjuntivite flictenular. Afetação pleural é frequente. No caso das crianças e dos imunocomprometidos, a doença pode progredir rapidamente e assumir formas mais severas, com derrame pleural e pneumonia associada ao rompimento das linfadenopatias que neste contexto se podem desenvolver. A disseminação hematogénea é frequente, resultando em TB miliar ou disseminada, caracterizada pela formação de lesões granulomatosas nos órgãos afetados.⁵

A TB pleural pós-primária é mais frequente nos adultos e resulta da reativação de TB latente ou de reinfeção. Acomete principalmente os lobos pulmonares superiores, devido à maior disponibilidade de oxigénio que favorece o crescimento e desenvolvimento das micobactérias. Ocorre a formação de cavitações pulmonares, com contaminação das vias aéreas pelo material necrótico liquefeito. As lesões cavitárias

podem coalescer, originando pneumonia caseosa. A doença pode remitir espontaneamente ou seguir o curso da cronicidade, com fibrose e calcificação das lesões, e contínua libertação de micobactérias pelas vias aéreas. Este um processo debilitante denominado por *phthisis*.⁵

Os sintomas iniciais são inespecíficos e insidiosos. Consistem em febre baixa intermitente, suores noturnos profusos, perda de peso, anorexia, mal-estar geral e astenia. Posteriormente, os doentes podem apresentar tosse, que se vai tornando produtiva, com expetoração purulenta e hemoptises. A doença invasiva pode afetar a pleura e outras estruturas respiratórias o que condiciona dispneia. Laboratorialmente, pode haver anemia, leucocitose, trombocitose e aumento da velocidade de sedimentação e da proteína C reativa.⁵

A TB extrapulmonar pode, virtualmente, envolver qualquer órgão. Por ordem decrescente de frequência, os locais mais comumente afetados são: gânglios linfáticos, pleura, trato genito-urinário, sistema esquelético, meninges, peritoneu e pericárdio.⁵

1.2 Tuberculose Pleural

A TB extra-pulmonar representou, no ano de 2018, um total de 15% dos 7.0 milhões de novos casos notificados, com uma epidemiologia variável de acordo com a região geográfica, desde 8% nas regiões do Pacífico Ocidental até 24% no Mediterrâneo Oriental

Antonangelo *et al*, constataram que a TB Pleural perfaz um total de 3,7% de todos os casos de TB: 8,7% no Brasil, 6,5% a 8,7% na China e 10% a 19,3% em Espanha.⁸ Shaw *et al* referem que 25% dos doentes com TB, tem TB extrapulmonar como manifestação inicial.⁷

A TB pleural é a segunda manifestação mais comum de TB extrapulmonar nos países desenvolvidos.⁹ Shaw *et al* estimam que 3%-5% dos doentes com TB têm afetação pleural e que, em áreas endémicas para a doença, possa ascender aos 30%.⁷ A incidência de pleurisia tuberculosa varia regionalmente, conforme a incidência de TB. Em países com incidência baixa/moderada, a TB pleural representa cerca de 4-5% do total de casos de TB. Em países com elevada incidência, varia entre 22.3% e 68.8%.¹⁰

Nos países com elevada incidência de TB, a TB pleural é a principal etiologia de derrame pleural.⁷

A invasão pleural pelas micobactérias pode ocorrer tanto na infeção primária como na reativação de TB, sendo esta a mais comum nos países desenvolvidos.

Ocorre quando um foco caseoso subpleural rompe, libertando bacilos e antígenos bacilares no espaço pleural. Estas partículas vão interagir com os linfócitos TCD4+ (Th1) e elicitar uma resposta imunológica mediada por células, do tipo reação de hipersensibilidade tardia, com libertação de citocinas capazes de estimular a ação antimicrobiana dos macrófagos. O processo inflamatório vai aumentar a permeabilidade capilar e prejudicar negativamente a drenagem linfática local, originando um derrame pleural.

Pode também manifestar-se sob a forma de empiema tuberculoso, que resulta da extensão do processo infeccioso aos tecidos contíguos, podendo formar-se um trajeto fistuloso broncopleural com drenagem de material necrótico liquefeito resultante das cavitações.

Como consequência, a pleural visceral poderá sofrer um processo fibrótico, condicionando uma patologia pulmonar restritiva, com resolução cirúrgica via descorticação pleural.⁶ Quando ocorre rotura de uma cavitação, pode desenvolver-se um empiema tuberculoso, que tem como consequência a criação de uma fistula broncopleural e hidropneumotórax. Normalmente, requer tratamento cirúrgico, com descorticação pleural. Podem permanecer cicatrizes pulmonares de tecido fibrótico que condicionam clínica de doença pulmonar restritiva.⁵

A apresentação clínica da TB pleural pode ser aguda ou subaguda. É mais frequente em indivíduos VIH positivos. Em VIH negativos, acomete mais frequentemente os adultos jovens, exceto fenómenos de reativação, que tendem a atingir preferencialmente os adultos mais velhos.⁷

A apresentação clínica pode ser um derrame pleural, com sintomas e sinais variáveis, dependentes do volume acumulado. Pode ser assintomático. Quando agudo e sintomático, os sintomas mais frequentes são febre (75%), dor pleurítica (50%-75%) e tosse não produtiva (70%-75%). Pode existir mal-estar geral, cansaço anormal, anorexia, perda de peso (25%-85%), suores noturnos profusos (50%) e dispneia (50%) em graus variáveis.⁷

A derrame pleural é unilateral em cerca de 95% dos casos, de volume pequeno a moderado. Contudo, pode apresentar-se como organizado em 12% a 18% dos doentes e loculado em 30% dos doentes.¹¹

O exame objetivo do tórax poderá revelar macicez à percussão e ausência de murmúrio vesicular.⁵

A abordagem diagnóstica do doente com derrame pleural orienta para a realização de um raio X de tórax, que confirma a sua presença. Pode evidenciar outras

lesões pulmonares secundárias a TB (4% a 20% dos casos) como cavitações, consolidações pulmonares e nódulos pulmonares.⁶

Deve ser realizada uma toracocentese evacuadora ou diagnóstica, para recolher líquido pleural (LP). Tipicamente, o LP da TB pleural é cítrico ou hemorrágico, de aparência límpida, turva ou serosa.

Cumpra os Critérios de Light para exsudado.

Os níveis de LDH e as proteínas totais estão aumentadas e a concentração de proteínas no LP é superior a 50% da concentração de proteínas no soro. A concentração de glicose pode estar discretamente diminuída ou normal. O pH está entre 7,2-7,3, exceto nos empiemas.

A contagem celular situa-se entre 1000-6000 cél/mm³. A predominância celular é variável conforme a evolução da infecção. No momento do diagnóstico, a maioria dos pacientes evidencia uma predominância linfocítica, definida por uma percentagem de linfócitos no LP superior a 50% ou um rácio Linfócitos/Neutrófilos superior a 0,75. Se os doentes forem testados numa fase mais precoce, com menos de 2 semanas de evolução ou se se constatar a presença de loculações ou empiema, existe uma tendência neutrofílica. A presença de mais de 10% de eosinófilos e de mais de 5% de células mesoteliais torna o diagnóstico de TB pleural pouco provável.^{7,11}

O LP é paucibacilar, a deteção do Mt no LP por microscopia direta e por cultura é rara.¹¹

Por esta razão, a biópsia pleural é frequentemente necessária para se estabelecer o diagnóstico definitivo, através da deteção de granulomas ou de cultura positiva. Pode ser realizada amplificação automática de ácidos nucleicos do Mt, com resultado positivo em 75% dos casos. Este teste não se encontra recomendado no LP porque possui sensibilidade baixa e bastante variável, entre 37%-71%.^{5,10}

O diagnóstico definitivo de TB é tido quando existe confirmação micobacteriológica por microscopia direta com coloração de *Ziehl-Neelsen* ou cultura dos materiais biológicos: expectoração, com sensibilidade de 62,5% e 100%, respetivamente; LP com sensibilidade de 5,5% e 36,6%, respetivamente; e biópsia pleural com sensibilidade de 25,8% e 56,4%, respetivamente.¹¹

Korczynski *et al*, referem que a sensibilidade da baciloscopia e das culturas é de 6%-8% e 36,3%-41%, respetivamente.¹⁰

A baixa sensibilidade e a variabilidade da sensibilidade dos testes micobacteriológicos e o tempo de demora até que as culturas positivem (4-6 semanas

em meio sólido e 2 semanas em meio líquido) motivaram diversos estudos acerca de potenciais biomarcadores que facilitassem o diagnóstico, das quais a adenosina desaminase (ADA) se destaca.¹²

1.3 Adenosina Desaminase

A adenosina desaminase é uma enzima envolvida na metabolização das purinas, catalisando a conversão de adenosina e desoxiadenosina em inosina e desoxiosina, respetivamente. No processo existe libertação de amónia.^{7,11}

A ADA encontra-se presente em diversos tipos de populações celulares. Participa no processo de diferenciação das células linfóides e tem uma expressão importante a nível dos linfócitos T ativados.

Existem dois tipos de ADA: ADA1 e ADA2. A primeira predomina nos monócitos e linfócitos. A segunda predomina nos monócitos e nos macrófagos. No derrame pleural de etiologia tuberculosa, esta representa 88% do total da atividade da ADA, sendo o rácio ADA1/ADA total é inferior a 0,42.^{7,11}

Para a TB pleural, o doseamento da ADA2 tem melhor perfil de sensibilidade e especificidade em relação ao ADA total, sendo de 97,2% e 94,2%, respetivamente, para o ADA2 e 93,7% e 88,7%, respetivamente, para a ADA total.⁸ Apesar do doseamento do ADA2 aumentar a especificidade relativamente ao uso do ADA total, este método não se utiliza na prática devido à não standardização dos métodos de medição.¹²

Diversas condições patológicas provocam uma elevação da adenosina desaminase no líquido pleural, como o empiema, em que a ADA está elevada em 2/3 dos casos, derrames parapneumónicos, em que a ADA está elevada em 1/3 dos casos, linfomas, tumores sólidos, doenças autoimunes, como artrite reumatóide e lúpus eritematoso sistémico e outras doenças infecciosas, como a brucelose, febre Q, histoplasmoses e coccidioidomicoses.⁸

No caso da TB pleural, os valores da adenosina desaminase no líquido pleural são influenciados por diversos fatores demográficos, momento da colheita de líquido e métodos de doseamento.

A idade condiciona a senescência do sistema imunitário. Verifica-se um decréscimo da produção de células T *naïve*, repertórios mais limitados de *T-cell receptor*, redução da função dos T *helper*, ativação mais fraca dos linfócitos T, declínio na quantidade e na qualidade dos macrófagos. Por isso, as alterações induzidas pela idade no sistema imunitário têm consequências importantes na utilização clínica deste biomarcador.¹⁰

Korczynski *et al*, citando Lee *et al*, referem que dentro dos pacientes com pleurisia tuberculosa, aqueles mais velhos apresentavam níveis significativamente mais baixos de ADA no LP. Ainda os mesmos autores referem uma análise multivariada em que a idade mais avançada foi tida como um fator preditor independente de TB pleural em pacientes com doseamentos de ADA baixos. Para pacientes mais jovens e com níveis de ADA elevados está associada uma maior probabilidade de TB pleural. Esta probabilidade decresce significativamente com o decréscimo do ADA e com o incremento da idade.¹⁰

Porcel afirma, com base numa meta-análise acerca de 16 estudos realizados em Espanha (região com baixa incidência de TB), de um total de 4147 pacientes, que o doseamento do ADA pode estar falsamente diminuído em pacientes mais velhos. Ainda o mesmo estudo mostrou que, para o *cut-off* de >35 U/L, a sensibilidade (S) e especificidade (E) do ADA no LP era de 93% e 96%, respetivamente. A área abaixo da curva ROC era de 0.968 para identificar derrames pleurais de etiologia tuberculosa. Verificaram que o método de doseamento não influenciava o valor diagnóstico do ADA.¹²

Relativamente ao momento da colheita e análise do LP, Kotsiu *et al*, reportam que a atividade da adenosina desaminase se encontra diminuída nas fases iniciais da doença, enquanto o derrame apresenta uma predominância linfocítica. 10% dos doentes diagnosticados em fase precoce apresentavam níveis de ADA mais baixos. Estes aumentam com a progressão natural da doença.¹³

A exposição crónica ao tabaco foi apontada por Lee *et al* como um fator capaz de influenciar a atividade do ADA, pela imunossupressão causada pelos componentes químicos do cigarro, especialmente a nicotina, capaz de inibir a função imunológica das células T, tendo concluído que o status de fumador ativo eram preditores significativos de pleurisia tuberculosa na presença de valores de ADA menores.¹⁴

Esta conclusão é controversa. Kotsiou *et al*, num estudo retrospectivo longitudinal de 2017, com uma amostra 131 doentes, não identificaram correlação entre os valores do ADA e o status tabágico dos participantes.¹³

O uso da ADA como biomarcador de TB pleural é cientificamente válido e aceite na prática clínica, por ser um método simples, facilmente reprodutível, com baixo custo e com bom perfil de sensibilidade e especificidade.¹³

Em relação a Portugal, Reis *et al*, publicaram em 2014 um estudo transversal de 4 anos, com 107 pacientes, em que determinaram o valor *cut-off* do ADA mais ajustado à população do estudo, representativa da situação do país. Neste estudo, o um valor

inferior a 40U/L é virtualmente capaz de excluir TB pleural, com um valor preditivo negativo (VPN) de 98.7%. Um valor de ADA superior a 74.6 U/L com predominância de linfócitos (>50%), tem um elevado valor preditivo positivo (VPP), de 93.75% e pode ser usado para confirmar o diagnóstico com uma taxa de erro mínima de 1.1%.

Através da curva ROC, o valor *cut-off* que apresentava melhor perfil de S, E, PPV e NPV foi 40.5 U/L, respetivamente, 95%, 91.55%, 73.08%, 73.08% e 98.77%.

Associação da predominância de linfócitos no LP (>50%), aumentou a E para 95.40% e o PPV para 82.61%.

O estudo concluí que o ADA deve ser considerado um meio de diagnóstico de TB pleural útil no contexto português.¹⁵

Objetivo

Este trabalho tem como objetivo determinar quais as variáveis que influenciam o valor *cut-off* de adenosina desaminase no líquido pleural e a sua consequente utilização na prática clínica. Propõe-se ainda a determinar qual o valor *cut-off* que apresenta um melhor perfil de sensibilidade e especificidade, para uma população coorte diagnosticada com tuberculose pleural, no período de tempo compreendido entre janeiro de 2016 e dezembro de 2018, na ULS Guarda.

Materiais e Métodos

Foi realizado um estudo transversal retrospectivo, baseado na consulta dos processos clínicos de todos os pacientes que efetuaram o doseamento do ADA no líquido pleural, no laboratório da ULS da Guarda, no período de tempo compreendido entre janeiro de 2016 e dezembro de 2018.

Foram recolhidos dados sociodemográficos (local de residência, naturalidade, *status* tabágico, patologia pulmonar preexistente, tuberculose prévia, estado de imunossupressão e idade no momento do diagnóstico) e dados relativos ao tipo de derrame pleural e diagnóstico final.

Incluíram-se no estudo todos os pacientes com idade superior a 18 anos, com diagnóstico final de tuberculose pleural confirmado por microscopia direta com coloração *Ziehl-Neelsen*, crescimento micobacteriano em meio de cultura *Löwenstein-Jensen* e pesquisa positiva de ADN do Mt no líquido pleural/biópsia pleural. Foram excluídas as amostras repetidas, os derrames pleurais compatíveis com transudados e os derrames idiopáticos

3.1 Análise Estatística

3.1.1 Métodos Estatísticos

Recolhidos os dados da amostra suprarreferida, esta investigação utilizou uma abordagem quantitativa da análise de dados recorrendo ao *Software Statistical Package for Social Science* – SPSS, versão 26.0 para Windows, para o tratamento estatístico dos dados, em que se assumem os valores de p inferiores a 0,05 como estatisticamente significativos. Inicialmente, foram realizadas análises descritivas como a frequência, médias e desvios padrão. Posteriormente, para a decisão acerca de qual o tipo de testes estatísticos que deveriam ser utilizados – paramétricos ou não-paramétricos – realizou-se uma análise exploratória, onde se testou a normalidade dos dados. As variáveis em estudo não apresentaram uma distribuição normal (valores de p inferiores a 0,05), concluindo-se que os testes a utilizar seriam os não paramétricos. A análise inferencial foi feita através de testes de associação intra-sujeito e testes de diferenças inter-sujeitos, recorrendo aos coeficientes de correlação (de Spearman) e para testar as diferenças, realizar testes de Mann-Whitney.

A curva ROC foi realizada com o MedCalc® v 19.1.3.

Resultados

A amostra inicial era de 200 pacientes. Após a aplicação dos critérios de inclusão e de exclusão, a análise estatística incidiu sobre um total de 136 pacientes. Foram excluídos 64 pacientes, por se tratarem de amostras repetidas, derrames idiopáticos, transudados e doseamento de ADA realizado no líquido pericárdico.

Dos pacientes sobre os quais incidiu a análise, 82 eram do sexo masculino (60.3%) e 54 do sexo feminino (39.7%). A idade média era de 70,43 anos (DP = 15,65).

Em relação à naturalidade, 108 eram da Guarda (79.4%); 10 de Castelo Branco (7.4%); 6 de Viseu (4.4%); 3 de Coimbra (2.2%); 2 de Portalegre (1.5%); 1 de Beja (0.7%); 1 de Bragança (0.7%); 1 de Angola (0.7%); 1 do Brasil (0.7%); 1 da Bélgica (0.7%); e 2 de naturalidade desconhecida (1.5%).

131 (96.3%) residiam na Beira Interior e 5 não residiam na Beira Interior (3.7%).

Em relação ao status tabágico, 21 eram ex-fumadores (15.4%); 34 eram não fumadores (25.0%); 15 eram fumadores ativos (11.0%); e desconhecia-se o *status* tabágico de 66 doentes (48.5%).

Em relação à existência de patologia pulmonar concomitante, 1 apresentava asma (0.7%); 1 apresentava DPOC, SAOS e HTP (0.7%); 1 doente tinha HTP (0.7%); 1 apresentava metastização pleural de uma neoplasia não pulmonar (0.7%); 7 apresentavam neoplasia pulmonar (5.1%); 1 apresentava uma neoplasia pulmonar e DPOC (0.7%); 2 apresentavam SAOS (1.5%) ; 2 apresentavam SHO (1.5%); 1 apresentava SHO e DPOC (0.7%); 117 não tinha qualquer patologia pulmonar concomitante (86.0%) e desconheciam-se dados acerca deste parâmetro em 2 doentes (1.5%).

Em relação a estados favorecedores de imunossupressão, 69 doentes não apresentavam a sua imunidade comprometida (50.7%). 67 doentes apresentavam patologias que comprometiam a sua imunocompetência, dos quais 18 apresentavam diabetes *mellitus* (DM) (13.2%); 7 apresentavam alcoolismo crónico (5.1%); 7 apresentavam neoplasia do pulmão (5.1%); 13 apresentavam outras neoplasias (9.6%); 3 tinham uma doença autoimune (2.2%); 2 apresentavam doença renal crónica (1.5%); 2 apresentavam doença hepática crónica (1.5%); 3 tinham uma neoplasia e DM (2.2%); 2 tinham uma neoplasia e uma doença autoimune (1.5%); 2 tinham uma neoplasia e DRC (1.5%); 1 tinha uma neoplasia e doença hepática crónica (0.7%); 1 tinha DRC e DM (0.7%); 1 tinha DRC e uma doença autoimune (0.7%); 3 apresentavam DM e alcoolismo

crónico (2.2%); 1 apresentava uma neoplasia, alcoolismo crónico e doença hepática (0.7%); 1 apresentava DM, alcoolismo crónico e doença hepática (0.7%).

Em relação às dimensões do derrame, 76 derrames ocupavam mais de metade do hemitórax (55.9%). 41 não ocupavam mais de metade do hemitórax (30.1%). Desconheciam-se dados sobre esta parâmetro em 19 doentes (14.0%)

Em relação ao aspeto macroscópico do derrame, 38 eram derrames hemáticos (28.0%); 1 era fibrinoso (0.7%); 32 eram turvos (23.5%); 58 eram derrames serosos (42.6%); 1 era límpido (0.7%); 1 era lipémico (0.7%); desconheciam-se dados acerca deste parâmetro em três doentes (2.2%).

Em relação ao diagnóstico, havia 10 derrames tuberculosos (7.4%); 54 derrames infecciosos (39.7%), dos quais 10 eram empiemas (18.5%); 45 derrames neoplásicos (33.1%); e 27 tinham outros diagnósticos (19.9%);

As características do LP dos doentes da amostra, para a média e desvio padrão para o ADA, pH, glicose, eritrócitos, rácio LDH LP/LDH soro, rácio proteínas LP/proteínas soro, rácio linfócitos/polimorfonucleares do LP, encontram-se apresentadas na figura 1.

	Média	Desvio Padrão
ADA (UI/L)	14,05	1,56
pH do LP	7,88	0,04
Glicose do LP (mg/dL)	112,56	5,53
Eritrócitos do LP (/mm ³)	16783,1	3036,51
Rácio LDH do LP / LDH do soro	2,2	0,43
Rácio proteínas do LP / proteínas do soro	6,64	0,09
Rácio linfócitos / polimorfonucleares do LP	14,83	2,54

Figura 1 Características do líquido pleural da amostra em estudo

A análise comparativa entre os doentes com TB pleural e os doentes com outros diagnósticos, em relação às diferenças das características demográficas e do LP encontra-se na figura 2 e figura 3.

	Tuberculose pleural		Não tuberculose pleural	
	N = 10		N = 126	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Idade (anos)	57,80	22,62	74,43	14,63
ADA (UI/L)	29,14	14,05	13,92	15,71
pH do LP	8,00	0,00	7,88	0,33
Glicose do LP (mg/dL)	93,90	35,37	106,14	50,79
Eritrócitos do LP (/mm ³)	85100,00	213979,98	45865,55	146676,45
Rácio LDH do LP / LDH do soro	1,45	0,88	2,72	4,66
Rácio proteínas do LP / proteínas do soro	0,70	0,04	0,64	0,12
Rácio linfócitos / polimorfonucleares do LP	34,29	36,75	10,33	16,56

Figura 2 Análise comparativa entre doentes com tuberculose pleural e doentes com outros diagnósticos em relação às diferenças das características idade e das características do líquido pleural

	Tuberculose pleural	Outros diagnósticos
n (%)	10 (7,4)	126 (92,6)
Sexo n (%)	5 homens (50) 5 mulheres (50)	77 homens (61,1) 49 mulheres (38,9)
Naturalidade n (%)	7 Guarda (70) 1 Castelo Branco (10) 1 Viseu (10) 1 Portalegre (10)	101 Guarda (80,2) 9 Castelo Branco (7,1) 3 Coimbra (2,4) 5 Viseu (4,0) 1 Portalegre (0,8) 1 Beja (0,8) 1 Bragança (0,8) 1 Angola (0,8) 1 Brasil (0,8) 1 Bélgica (0,8)
Residência n (%)	9 residentes na Beira Interior (90) 1 não residente na Beira Interior (10)	122 residentes na Beira Interior (96,8) 4 não residentes na Beira Interior (3,2)
Status tabágico n (%)	5 não fumadores (50) 2 ex-fumadores (20) 3 desconhecidos (30)	29 não fumadores (23,0) 19 ex-fumadores (15,1) 63 desconhecidos (50) 15 fumadores ativos (11,9)
Imunossupressão n (%)	5 sem patologia (50) 3 DM (30) 2 neoplasias (20)	64 sem patologia (50,8) 15 DM (11,9) 11 neoplasias (8,7) 2 DRC (1,6) 7 alcoolismo crónico (5,6) 7 neoplasia do pulmão (5,6) 3 doenças autoimunes (2,4) 3 doenças hepáticas (2,4) 3 neoplasias e DM (2,4) 2 neoplasias e doença autoimune (1,6) 2 neoplasias e DRC (1,6) 1 neoplasia e doença hepática (0,8) 1 DRC e DM (0,8) 1 DRC e doença autoimune (0,8) 1 DM e alcoolismo crónico (0,8) 1 DM, alcoolismo crónico e doença hepática (0,8)

Figura 3. Análise comparativa entre os doentes com TB pleural e os doentes com outros diagnósticos, em relação às diferenças das características demográficas

Os valores *cut.off* do ADA e os respetivos valores de sensibilidade e especificidade para a amostra do estudo, encontram-se representados na figura 4.

ADA (UI/L)	Sensibilidade (%)	95% IC	Especificidade (%)	95% IC
≥ 0	100,00	69.20 - 100.00	0.00	0.00 - 2.90
> 7.3	100,00	69.20 - 100.00	39.68	31.10 - 48.80
> 7.4	90,00	55.50 - 99.70	40.48	31.80 - 49.60
> 10.7	90,00	55.50 - 99.70	62.70	53.60 - 71.10
> 10.9	80,00	44.40 - 97.50	62.70	53.60 - 71.10
> 12.2	80,00	44.40 - 97.50	71.43	62.70 - 79.10
> 12.3	70,00	34.80 - 93.30	71.43	62.70 - 79.10
> 24.9	70,00	34.80 - 93.30	87.30	80.20 - 92.60
> 29.7	60,00	26.20 - 87.80	87.30	80.20 - 92.60
> 33	60,00	26.20 - 87.80	89.68	83.00 - 94.40
> 34.1	40,00	12.20 - 73.80	89.68	83.00 - 94.40
> 35.3	40,00	12.20 - 73.80	90.48	84.00 - 95.00
> 36.8	30,00	6.70 - 65.20	90.48	84.00 - 95.00
> 38	20,00	2.50 - 55.60	91.27	84.90 - 95.60
> 38.1	20,00	2.50 - 55.60	92.06	85.90 - 96.10
> 39.6	10,00	0.3 - 44.50	92.06	85.90 - 96.10
> 44.9	10,00	0.3 - 44.50	93.65	87.90 - 97.20
> 49.1	0,00	0.00 - 30.80	94.44	88.90 - 97.70
> 93.1	0,00	0.00 - 30.80	100	97.10 - 100.00

Figura 4. Valores *cut-off* do ADA e os respetivos valores de sensibilidade e especificidade do estudo

A análise curva ROC, para a amostra, encontra-se na figura 5.

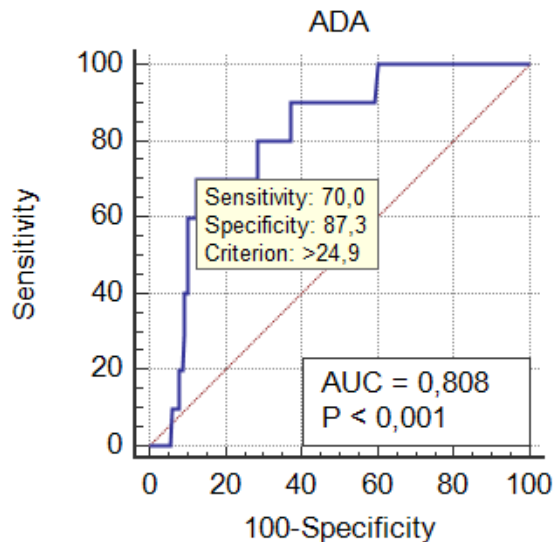


Figura 5. Análise AUC-ROC para a amostra

Relativamente às diferenças entre os doentes com TB pleural e os doentes com outros diagnósticos, os testes de *Mann-Whitney* demonstraram que não há diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos ao nível da idade ($U=409.50$,

p=0.07), sexo (U=560.00, p=0.49), residência (U=587.00, p=0.27), naturalidade (U=547.00, p=0.37), status tabágico (U=179.50, p=0.38), estado de imunossupressão (U=596.50, p=0.76), pH do LP (U=505.00, p=0.11), glicose no LP (U=519.50, p=0.36), eritrócitos no LP (U=580.50, p=0.90), rácio LDH LP/LDH soro (U=417.00, p=0.72) e rácio proteínas LP/proteínas soro (U=175.50, p=0.17). Houve diferenças estatisticamente significativas para o parâmetro rácio linfócitos LP/polimorfonucleares LP (U=270.00, p=0.004).

Foi realizado o teste de correlação de Spearman, entre o valor do ADA (UI/L) e as restantes variáveis do estudo, que se encontra na figura 6.

	ADA (UI/L)
Idade (anos)	$r_s = -0,08$; $p = 0,33$
Sexo	$r_s = -0,15$; $p = 0,08$
Residência	$r_s = -0,03$; $p = 0,76$
Naturalidade	$r_s = -0,02$; $p = 0,84$
Status tabágico	$r_s = 0,05$; $p = 0,68$
Imunossupressão	$r_s = -0,12$; $p = 0,17$
pH do LP	$r_s = -0,34^{**}$; $p = 0,00$
Glicose do LP (mg/dL)	$r_s = -0,41^{**}$; $p = 0,00$
Eritrócitos do LP (/mm ³)	$r_s = 0,09$; $p = 0,31$
Rácio LDH do LP / LDH do soro	$r_s = 0,44^{**}$; $p = 0,00$
Rácio proteínas do LP / proteínas do soro	$r_s = 0,25^*$; $p = 0,02$
Rácio linfócitos LP / polimorfonucleares LP	$r_s = -0,17^*$; $p = 0,05$

Figura 6. Correlações não - paramétricas entre a variável ADA e as restantes variáveis em estudo; Correlações de Spearman com significância * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$

Verifica-se que existe uma forte correlação negativa entre o valor de ADA e o pH do LP, entre o valor de ADA e a glicose do LP, com nível de significância para $p < 0,01$. Existe uma correlação negativa entre o valor de ADA e o rácio linfócitos LP/polimorfonucleares LP, com nível de significância para $p < 0,05$. Existe uma forte correlação positiva entre o ADA e o rácio LDH LP/LDH soro, com nível de significância para $p < 0,01$ e ainda uma correlação positiva entre o ADA e o rácio proteínas no LP/proteínas soro, com nível de significância para $p < 0,05$.

Discussão

O valor *cut-off* para o doseamento do ADA no LP atualmente utilizado é o de 40.5 U/L. Este valor foi estabelecido por Reis *et al*, em 2014, altura em que Portugal era considerado um país de moderada incidência, com uma taxa de 25.9 casos/100.000 habitantes. Atualmente, a incidência de TB no país decresceu significativamente. Passou a ser classificado como um país de baixa incidência, com 15.4 casos/100.00 habitantes. Neste contexto, não foram desenvolvidos ajustes no valor *cut-off* utilizado, sabendo que a incidência da doença afeta a sensibilidade e especificidade do mesmo.

Tem sido validada a possibilidade de existirem outros fatores que afetem o desempenho de sensibilidade e especificidade do ADA.

A amostra utilizada neste trabalho é representativa da população da Beira Interior, que se caracteriza por ser uma população envelhecida, com idade média de diagnóstico de 70.4 anos e com comorbilidades significativas.

Os doentes inseridos no grupo de diagnóstico “outros diagnósticos” tinham uma idade média de apresentação superior aos outros grupos, sendo de 73.33 anos, seguindo-se do grupo dos “paraneoplásicos”, com idade média de 72.80 anos, e do grupo dos derrames “infeciosos”, com idade média de apresentação de 69.33 anos. O grupo que tinha uma menor idade média de apresentação foi o grupo da TB pleural, com 57.80 anos. Estes dados estão de acordo com a bibliografia, que refere que os casos de TB pleural tendem a ocorrer em indivíduos mais jovens, comparativamente com os casos de derrames infecciosos e paraneoplásicos. Estes últimos aumentam com o avançar da idade.^{5,10,14}

Na amostra, a principal causa de derrame foi a causa infecciosa, com 54 ocorrências, seguindo-se a paraneoplásica, com 45 ocorrências e, por fim, a TB pleural, com 10 ocorrências. Segundo a literatura, o envelhecimento da população torna as causas paraneoplásicas as causas mais frequentes de derrame pleural, o que não se verifica nesta amostra.^{5,10,14}

Em relação ao valor de ADA doseado no LP, o grupo que tinha a maior média de valores foi o grupo da TB pleural, com 29.14 U/L, seguindo-se os derrames infecciosos com ADA médio de 18.8 U/L, os derrames paraneoplásicos com ADA médio de 11.16 U/L e os derrames de outras etiologias com ADA médio de 8.73 U/L. O facto de o ADA no grupo de TB pleural ser mais elevado em relação aos restantes encontra-se concordante com a bibliografia. Contudo, para o grupo de TB pleural, o valor do ADA médio encontra-se consideravelmente distante do valor *cut-off* sugerido pelas anteriores publicações.¹⁵

Ao realizar a análise do perfil de sensibilidade e especificidade dos diferentes valores *cut-off* possíveis face às características da amostra, verifica-se que o valor mais próximo do valor de corte de referência (40.5 U/L) é o valor de 39.6 U/L e que este possui uma baixa sensibilidade e especificidade, o que na prática clínica prejudica o desempenho associado à sua utilização. Ao utilizar este valor para diagnosticar os doentes com TB pleural, constata-se que 9 do total de 10 doentes deixaria de ser corretamente diagnosticado. Verifica-se, com base na análise estatística efetuada que o valor de corte que exibe uma melhor sensibilidade e especificidade para esta amostra é o de 24.9 U/L, com uma sensibilidade de 70% (*versus* 10%) e especificidade e 87.3% (*versus* 92.06%). Para este valor, a AUC ROC era de 0.808 ($P < 0.001$).

Neste estudo, segundo os testes de correlação de Spearman, verificou-se a existência de correlação positiva entre o ADA e o rácio LDH LP/LDH soro e entre o ADA e o rácio proteínas LP/proteínas soro, o que significa que à medida que o doseamento de ADA no LP tende a aumentar ou a descer, em consequência de processos fisiopatológicos, estes parâmetros aumentam ou descem, de acordo. Esta correlação é apoiada pela bibliografia, que sugere que o processo inflamatório responsável pelo aumento do ADA, faz também aumentar o LDH e as proteínas no LP.^{5,6,8}

Verifica-se que existe correlação negativa entre o valor de ADA e o pH do LP, entre o valor de ADA e a glicose do LP, entre o valor de ADA e o rácio linfócitos LP/polimorfonucleares LP, o que significa que à medida que o doseamento de ADA no LP tende a aumentar ou a descer, em consequência de processos fisiopatológicos, estes parâmetros descem ou aumentam, de forma inversa. Esta correlação é apoiada pela bibliografia, que sugere que o processo inflamatório responsável pelo aumento do ADA, faz também diminuir o pH do LP, a glicose e o rácio (pelo aumento de polimorfonucleares envolvidos na resposta).^{5,6,8}

Em estudos realizados previamente por diversos autores, foi sugerida e explorada a existência de correlação estatisticamente significativa entre o ADA e a idade, ADA e estado de imunossupressão e ADA e tabagismo. Embora esta não se tenha verificado de forma consistente, devido a dificuldades inerentes aos desenhos dos estudos, o conhecimento acerca da fisiopatologia da TB pleural parece sugerir que estes parâmetros possam, efetivamente, exercer influência.^{10,14,15}

Nesta investigação, não foi possível verificar-se correlação entre o ADA e as variáveis descritas no parágrafo anterior.

Os resultados podem ter sido prejudicados pelas limitações inerentes ao desenho do estudo. Primeiramente, este é um estudo unicêntrico realizado com uma

amostra de pacientes de número moderado (n=136), refletindo a epidemiologia local da TB pleural (n=10). Existem diferenças no contexto epidemiológico e demográfico no resto do país. A amostra reduzida poderá ter impedido a obtenção de significância estatística em relação às variáveis confundidoras de ADA.

Em estudos subsequentes recomenda-se o aumento da amostragem e o envolvimento de outros centros hospitalares.

Ainda assim, o presente estudo vem mostrar a necessidade de re-equacionar o valor de *cut-off* de ADA pleural em função da evolução epidemiológica de TB tanto a nível nacional como local. Na nossa amostra o melhor valor *cut-off* obtido de ADA no LP foi 24.9U/L. Estes resultados sublinham a necessidade de repensar este valor, dado que o limite proposto não permitiu diagnosticar 9 dos 10 pacientes com TB pleural.¹⁶

Bibliografia

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report. 2019.
2. Programa Nacional para a Tuberculose. Tuberculose em Portugal: dados provisórios. 2019.
3. Franco I, Sousa P, Gomes M, Oliveira A, Gaio AR, Duarte R. Social profile of the highest tuberculosis incidence areas in Portugal. *Rev Port Pneumol* . 2016;22(1):50–2.
4. Miguel P, Soares M. Estudo Retrospectivo da Tuberculose Pulmonar na Beira Interior. 2014;
5. Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, et al, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 19th ed. New York: McGraw Hill; 2015.
6. Ferreiro L, San José E, Valdés L. Derrame pleural tuberculoso. *Arch Bronconeumol* [Internet]. 2014;50(10):435–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arbres.2013.07.006>
7. Shaw JA, Irusen EM, Diacon AH, Koegelenberg CF. Pleural tuberculosis: A concise clinical review. *Clin Respir J*. 2018;12(5):1779–86.
8. Antonangelo L, Faria CS, Sales RK. Tuberculous pleural effusion: diagnosis & management. *Expert Rev Respir Med* [Internet]. 2019;13(8):747–59. Available from: <https://doi.org/10.1080/17476348.2019.1637737>
9. Zhai K, Lu Y, Shi HZ. Tuberculous pleural effusion. *J Thorac Dis*. 2016;8(7):486–94.
10. Korczynski P, Klimiuk J, Safianowska A, Krenke R. Impact of age on the diagnostic yield of four different biomarkers of tuberculous pleural effusion. *Tuberculosis* [Internet]. 2019;114:24–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2018.11.004>
11. Ferreiro L, Toubes ME, San José ME, Suárez-Antelo J, Golpe A, Valdés L. Advances in pleural effusion diagnostics. *Expert Rev Respir Med* [Internet]. 2020;14(1):51–66. Available from: <https://doi.org/10.1080/17476348.2020.1684266>
12. Porcel JM. Biomarkers in the diagnosis of pleural diseases: a 2018 update. *Ther Adv Respir Dis*. 2018;9(12):1–11.
13. Kotsiou OS, Tzortzi P, Beta RAA, Kyritsis A, Gourgoulidis KI. Repeatability of pleural adenosine deaminase measurements in diagnostic evaluation of pleural effusions. *J Clin Lab Anal*. 2018;32(5):1–6.
14. Lee SJ, Kim HS, Lee SH, Lee TW, Lee HR, Cho YJ, et al. Factors influencing pleural adenosine deaminase level in patients with tuberculous pleurisy. *Am J Med Sci*. 2014;348(5):362–5.

15. Reis R, Costa AS, Conde B. Pleural adenosine deaminase in the diagnostic workup of tuberculous pleural effusion. *Rev Port Pneumol* [Internet]. 2014;20(4):228–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rppneu.2014.03.005>
16. Ribeiro L, Natal R, Samouco G, Braga S, Ribeiro J, Rodrigues L. Poster aceite para apresentação no XX congresso de Pneumologia do Norte