

IV. Resultados

1. AMOSTRAS E PACIENTES

No período de Março de 2000 a Julho de 2001, 58 amostras de 45 pacientes com suspeita de tuberculose pleural foram encaminhadas ao Laboratório de Virologia Molecular da FMRP-USP. Dos 45 pacientes, 16 tiveram diagnóstico de tuberculose conforme critérios descritos em definição de caso.

Foram coletadas no máximo 4 amostras por paciente, 34 pacientes tiveram apenas uma amostra coletada no período do estudo, 10 pacientes tiveram 2 amostras, e apenas um paciente teve 4 amostras durante este período.

2. TÉCNICAS DE CONCENTRAÇÃO DAS AMOSTRAS

Este procedimento foi realizado em algumas amostras. Observamos que o material era muito espesso, provavelmente pela presença de fibrina, obstruindo os orifícios da membrana e inviabilizando o procedimento, sendo esta técnica abandonada posteriormente.

3. ASPECTOS DAS AMOSTRAS

Das 58 amostras dos 45 pacientes, 13 amostras de 10 pacientes eram hemorrágicas, 4 amostras de 3 pacientes eram purulentas. Das amostras hemorrágicas, 2 pacientes tiveram diagnóstico de tuberculose conforme critérios descritos em definição de caso. Das 4 amostras purulentas, apenas uma amostra, correspondendo a um paciente, foi diagnosticada como caso de não tuberculose; as outras 3 amostras de 2 pacientes foram

diagnosticadas como caso de tuberculose conforme descritos em definição de caso.

Nas amostras purulentas, a cultura foi positiva em 3 amostras de 2 pacientes, sendo que um mesmo paciente apresentou uma amostra positiva para *M. tuberculosis* e uma outra amostra para *Mycobacterium sp.*

4. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

Das 58 amostras estudadas, provenientes dos 45 pacientes, 22 amostras eram dos 16 casos de tuberculose, sendo que a **baciloscopia** foi negativa em todas as amostras.

A **cultura** foi positiva para *M. tuberculosis* em 3 amostras e, em uma outra, houve identificação apenas do gênero (*Mycobacterium sp*), sendo que 2 destas amostras pertenciam a um mesmo paciente que foi identificado como *Mycobacterium sp* e *M. tuberculosis* (**TABELAS 3 e 4**).

Os resultados de sensibilidade, especificidade, acuidade e valores preditivos positivo e negativo da baciloscopia e da cultura podem ser observados nas **TABELAS 3 e 4** e nos **GRÁFICOS 1, 2, 3, 4, 5 e 6**.

A sensibilidade da baciloscopia foi de 0% para as amostras e pacientes. A sensibilidade da cultura foi de 18,2% e 18,8% para amostras e pacientes, respectivamente.

5. RESULTADOS DO EXAME HISTOLÓGICO

O exame histopatológico foi realizado em 27 dos 45 pacientes, sendo feito apenas um exame por paciente. O resultado foi sugestivo de tuberculose (pleurite granulomatosa) em 5 e negativo em 22 pacientes.

Dos 16 pacientes com tuberculose, o anatomopatológico foi realizado em apenas 9 casos, sendo sugestivo de tuberculose em 5 e negativo em 4 (**TABELAS 3 e 4**).

A sensibilidade do exame anatomopatológico foi de 55,6% e a especificidade foi de 100% para as amostras e pacientes respectivamente (**TABELAS 3 e 4**). Para efeito de cálculos, consideramos os resultados sugestivos como positivos, mesmo não havendo visualização do bacilo à coloração de Ziehl-Neelsen.

A sensibilidade, especificidade e a acuidade foram calculadas com base nos 27 pacientes, sendo que 9 pacientes apresentaram diagnóstico de tuberculose conforme descrito em definição de caso e 18 pacientes em que o diagnóstico de tuberculose foi descartado com base na definição de caso estabelecida neste trabalho, sendo feito apenas um exame por paciente (**GRÁFICOS 1, 2, 3**).

6. RESULTADOS DA PCR

A PCR foi realizada no material total (antes da centrifugação), no sobrenadante e no sedimento. Uma amostra foi positiva apenas no sedimento, 3 amostras foram positivas apenas no material total, e as outras 2 amostras foram positivas no material total, no sobrenadante e no sedimento.

A PCR foi positiva para *M. tuberculosis* em 6 amostras de 6 pacientes, 5 pacientes tinham diagnóstico de tuberculose (**FIGURA 2**). A reação foi positiva em 1 amostra de um paciente em que o diagnóstico de tuberculose

foi descartado. Este paciente foi descartado, pois ele não teve nenhum resultado compatível com a definição de caso descrita neste trabalho.

A sensibilidade foi de 22,7% e 31,3%, e a especificidade foi de 97,2% e 96,6% para as amostras e pacientes respectivamente, como podem ser observados nas **TABELAS 3 e 4** e nos **GRÁFICOS 1, 2, 4 e 5**.

Foi também realizado o exame de PCR nas amostras de líquido pleural, em cuja cultura houve apenas a identificação do gênero *Mycobacterium*, sem identificação da espécie. Três amostras de 3 pacientes foram identificadas na cultura como *Mycobacterium sp*, sendo que uma amostra era de líquido pleural e outras 2 amostras de outros materiais clínicos. Foram utilizados *primers* específicos para o gênero *Mycobacterium* e para as espécies *M. avium* e *M. intracellulare*. A PCR foi negativa em todas as amostras de líquido pleural para *M. avium*, *M. intracellulare* e *Mycobacterium sp*.

TABELA3- Comparação dos resultados de sensibilidade, especificidade, acuidade, VPP e VPN nos pacientes, onde: **TB (+)**: pacientes definidos como caso de tuberculose; **TB (-)**: pacientes em que o diagnóstico de tuberculose foi descartado. **S**: sensibilidade do teste; **E**: especificidade; **AC**: acuidade; **VPP**: valor preditivo positivo; **VPN**: valor preditivo negativo, **I.C**: intervalo de confiança (95%).

PACIENTES							
	TB		S	E	AC	VPP	VPN
	+	-					
PCR (+)	5	1	31,3%	96,6%	73,3%	83,3%	71,8%
PCR (-)	11	28	I.C. 11-58%	I.C. 82-99%		I.C. 35- 99%	I.C. 55-85%
CULTURA (+)	3	0	18,8%	100%	71,1%	100%	69%
CULTURA (-)	13	29	I. C.4-45%	I.C. 88-100%		I.C. 29-100%	I.C. 52-82%
BAAR (+)	0	0	0%	100%	64,4%	0%	64,4%
BAAR (-)	16	29					
ADA (+)	11	8	68,8%	72,4%	71,1%	57,9%	80,8%
ADA (-)	5	21	I. C. 41-88%	I. C. 52-87%		I. C. 33-79%	I. C. 60-93%
TOTAL DE PACIENTES	16	29					
BIÓPSIA (+)	5	0	55,6%	100%	85,1%	100%	81,8%
BIÓPSIA (-)	4	18	I. C. 21-86%	I. C. 81-100%		I. C. 47-100%	I. C. 59-94%
TOTAL DE BIÓPSIAS	9	18					

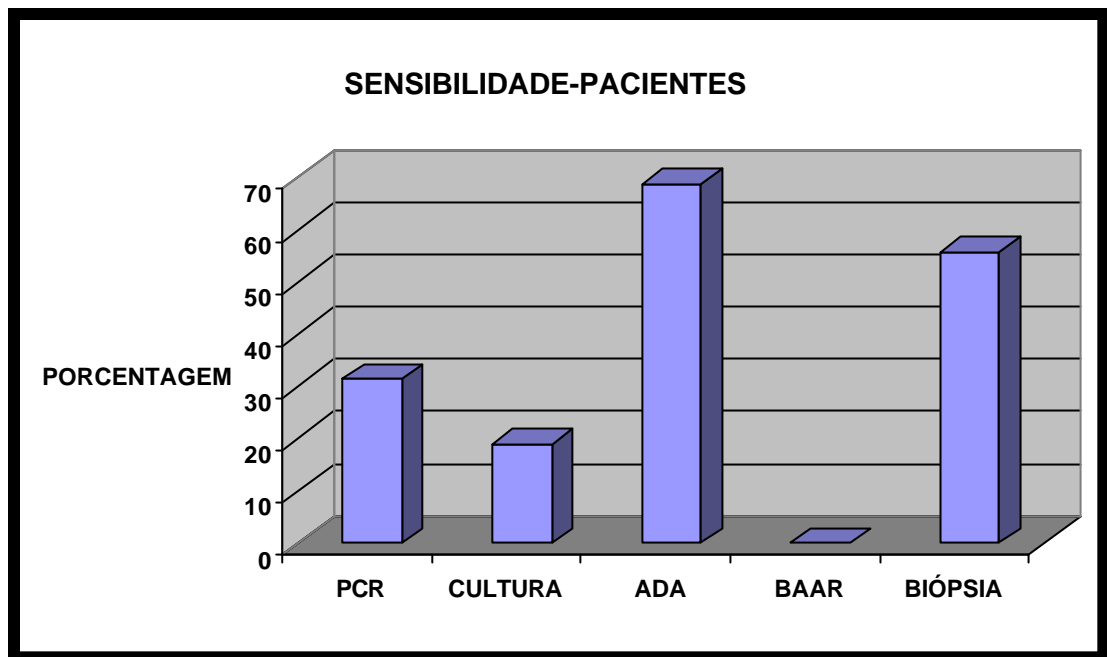


GRÁFICO 1- Comparação dos resultados de sensibilidade nos pacientes, entre as diferentes técnicas utilizadas.

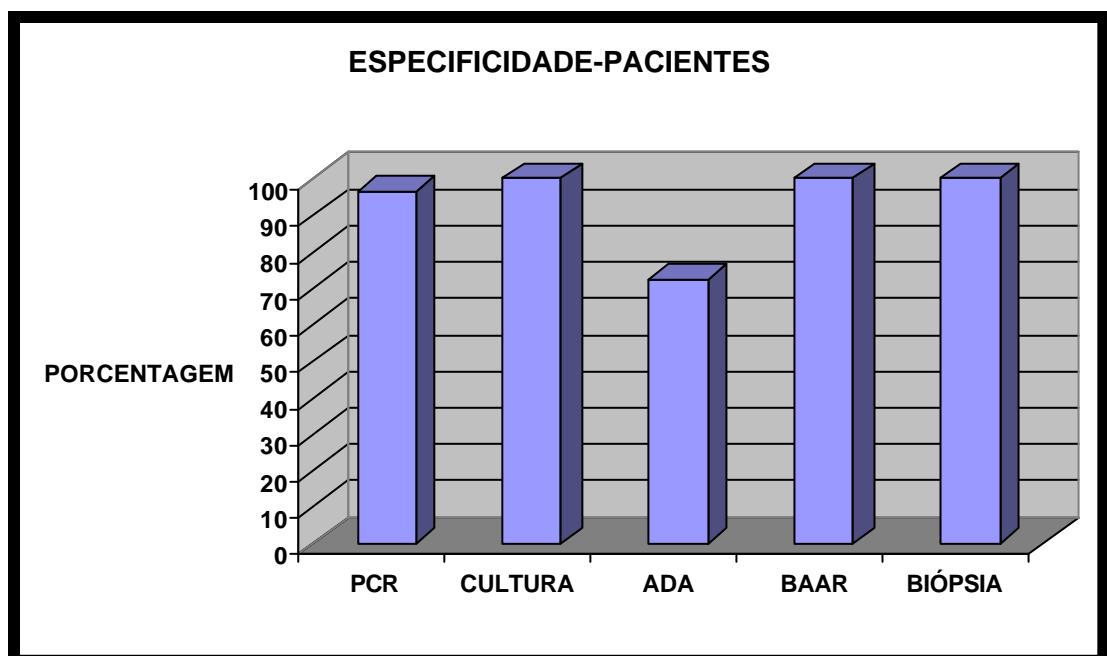


GRÁFICO 2- Comparação dos resultados de especificidade nos pacientes, entre as diferentes técnicas utilizadas.

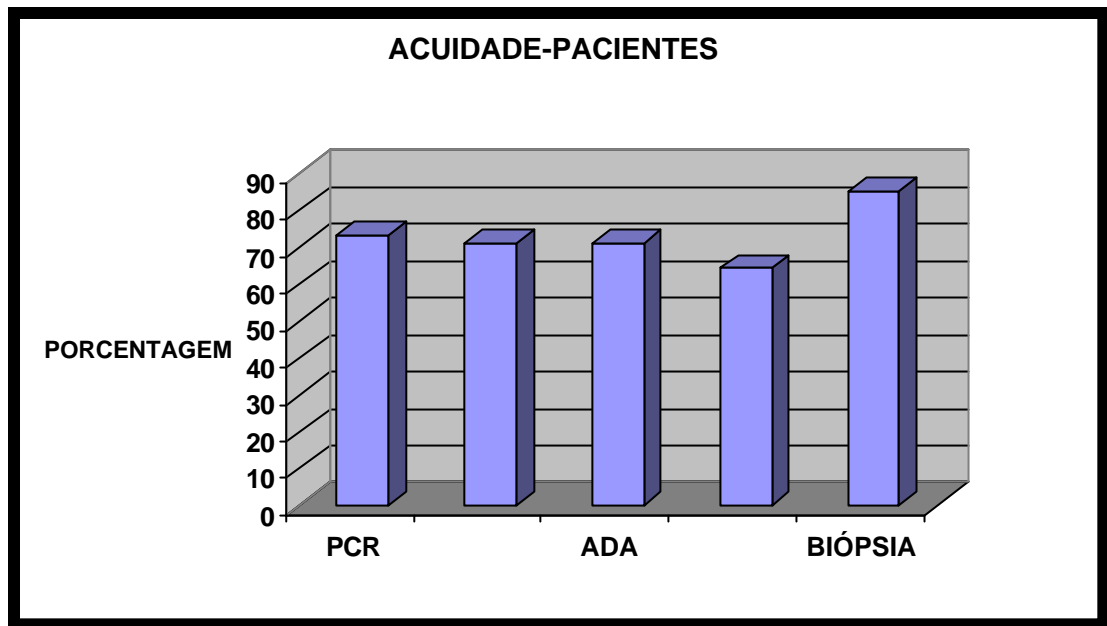


GRÁFICO 3 Comparação dos resultados de acuidade nos pacientes, entre as diferentes técnicas utilizadas.

TABELA4- Comparação dos resultados de sensibilidade, especificidade, acuidade, VPP e VPN nas amostras, onde: **TB (+)**: pacientes definidos como caso de tuberculose; **TB (-)**: pacientes em que o diagnóstico de tuberculose foi descartado. **S**: sensibilidade do teste; **E**: especificidade; **AC**: acuidade; **VPP**: valor preditivo positivo; **VPN**: valor preditivo negativo, **I.C**: intervalo de confiança (95%).

AMOSTRAS							
	TB		S	E	AC	VPP	VPN
	+	-					
PCR (+)	5	1	22,7%	97,2%	68,9%	83,3%	67,3%
PCR (-)	17	35	I. C. 7.8-45%	I. C. 85-99%		I. C. 35-99%	I. C. 52-79%
CULTURA (+)	4	0	18,2%	100%	68,9%	100%	66,7%
CULTURA (-)	18	36	I. C. 7.8-40%	I. C. 90-100%		I. C. 79-100%	I. C. 52-78%
BAAR (+)	0	0	0%	100%	62%	0%	62,1%
BAAR (-)	22	36					
ADA (+)	11	9	50%	75%	65,5%	55%	71,1%
ADA (-)	11	27	I. C. 28-71%	I. C. 57-87%		I. C. 31-76%	I.C. 54-84%
TOTAL DE AMOSTRAS	22	36					
BIÓPSIA (+)	5	0	55,6%	100%	85,1%	100%	81,8%
BIÓPSIA (-)	4	18	I.C. 21-86%	I.C. 81-100%		I.C. 47-100%	I.C. 59-94%
TOTAL DE BIÓPSIAS	9	18					

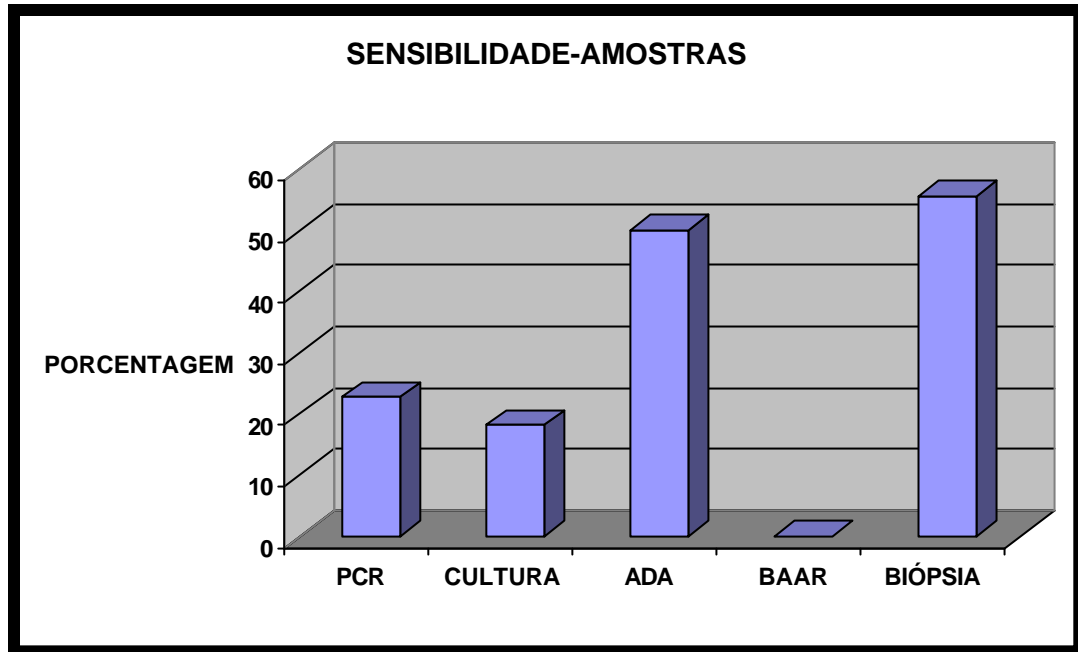


GRÁFICO 4- Comparação dos resultados de sensibilidade nas amostras, entre as diferentes técnicas utilizadas.

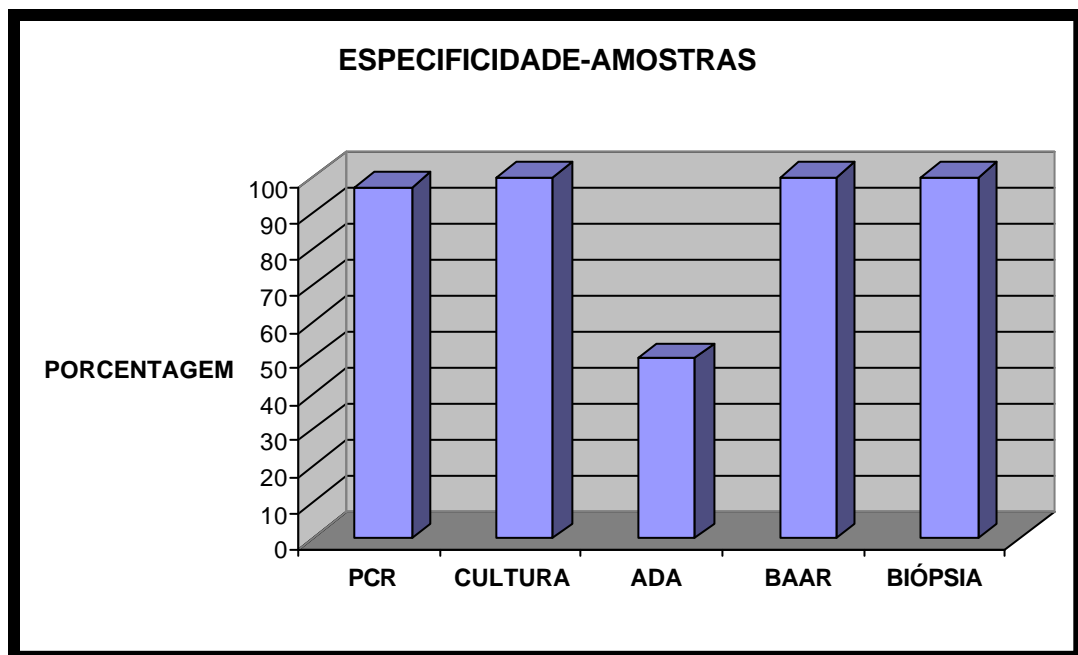


GRÁFICO 5- Comparação dos resultados de especificidade nas amostras, entre as diferentes técnicas utilizadas.

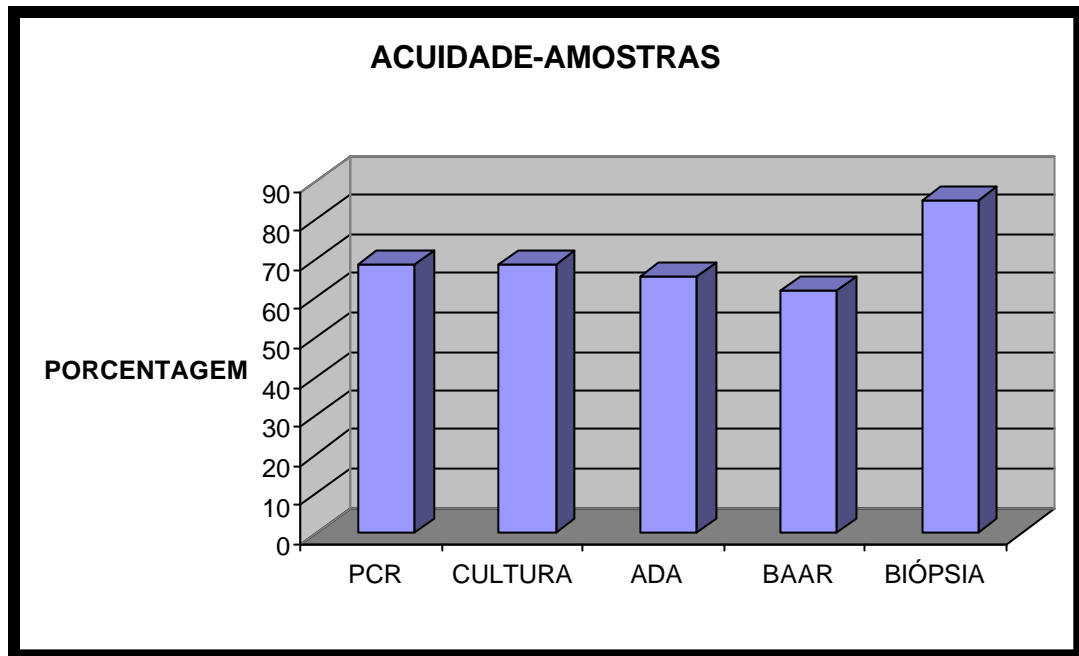


GRÁFICO 6 Comparação dos resultados de acuidade nas amostras, entre as diferentes técnicas utilizadas.

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

❖ *Mycobacterium tuberculosis*

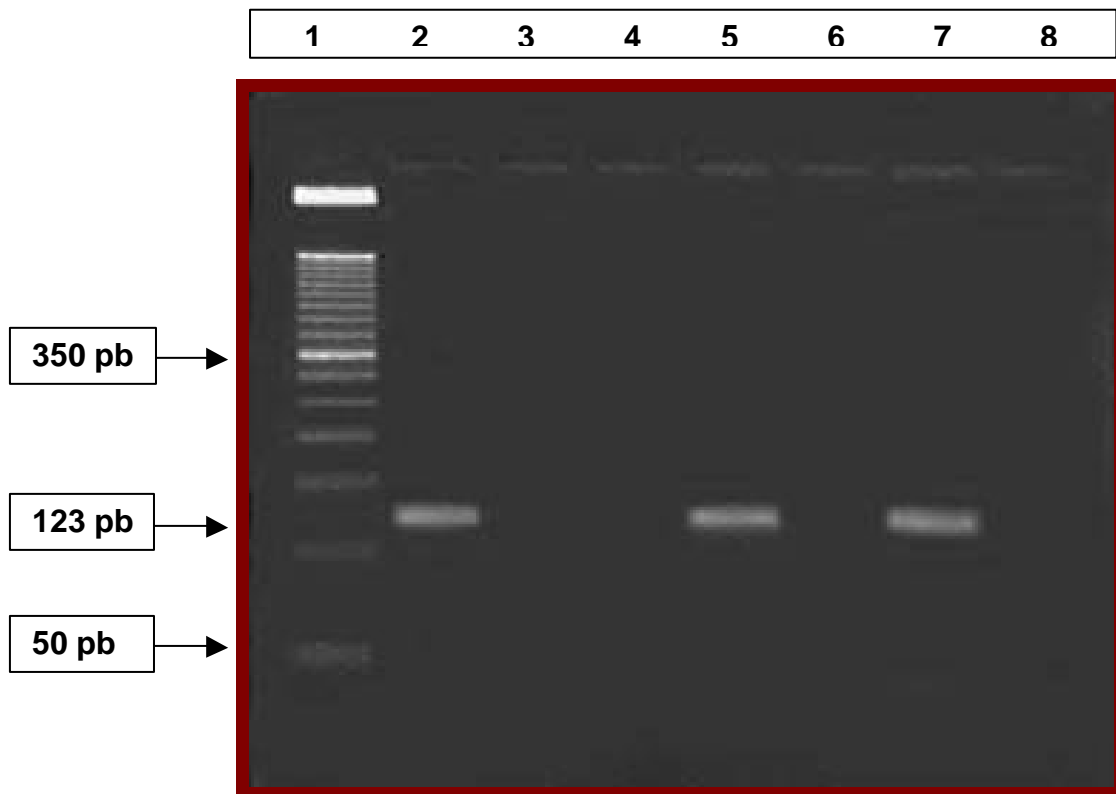


FIGURA 2- Eletroforese em gel de agarose a 3%. Na coluna 1, observa-se marcador de peso molecular (50pb DNA ladder); na coluna 2, observa-se o controle positivo. Observa-se controle negativo na coluna 3. Amostras positivas para tuberculose pleural são observadas nas colunas 5 e 7. Amostras negativas para tuberculose pleural são observadas nas colunas 4, 6 e 8.

7. DOSAGEM DA ADENOSINA DEAMINASE

O valor médio da dosagem da ADA nas 58 amostras foi de $43,6 \text{ U/L} \pm 33,8\text{U/L}$ e a mediana foi de 30U/L . Nas amostras com diagnóstico de tuberculose foi de $53\text{U/L} \pm 35\text{L}$, com uma mediana de 40U/L e nas amostras em que o diagnóstico de tuberculose foi descartado $37 \text{ U/L} \pm 31\text{U/L}$, com uma mediana de 29U/L . Se considerarmos o cut-off de 40U/L , o teste será considerado positivo em 11 amostras de 11 pacientes com tuberculose (**TABELAS 3 e 4**). Nas amostras de pacientes em que o diagnóstico de tuberculose foi descartado, 9 amostras de 8 pacientes apresentaram dosagem superior a 40U/L . Em duas amostras, provenientes de uma paciente com acometimento pleural por linfoma, foram obtidas dosagens de $85,54$ e $117,53\text{U/L}$.

A sensibilidade foi de 50% e $68,8\%$, e a especificidade foi de 75% e $72,4\%$ para as amostras e pacientes respectivamente. Os resultados dos valores preditivos positivo, negativo e da acuidade da dosagem da adenosina deaminase podem ser observado nas **TABELAS 3 e 4** e nos **GRÁFICOS 3 e 6**.

Os resultados de todos os pacientes com diagnóstico de tuberculose conforme descrito em definição de caso, são apresentados na tabela 8, onde podemos verificar que o diagnóstico foi realizado por pelo menos uma das técnicas disponíveis, o que não seria possível se fosse utilizada apenas uma das técnicas relacionadas. O paciente 8, o único que apresentou todos os resultados negativos no líquido pleural, apresentava um diagnóstico de leucemia mielóide crônica, pneumonia em base direita e complicações

hepáticas. Este paciente foi considerado como caso de tuberculose, pois ele apresentou uma baciloscopia positiva em lavado brônco alveolar. O mesmo iniciou tratamento com tuberculostáticos com base no resultado da baciloscopia e faleceu 18 dias após o início do tratamento. A cultura do líquido pleural, a PCR e a dosagem da adenosina deaminase foram negativos e o histopatológico da pleura não foi realizado enquanto o paciente estava vivo. A causa de óbito foi tamponamento cardíaco, o que não podemos descartar ser de etiologia tuberculosa, porém poderia ser resultado da doença de base ou do tratamento da quimioterapia.

TABELA 5: Resultados dos 16 pacientes com diagnóstico de tuberculose em amostras de líquido pleural. **NR:** não foi realizado o histopatológico; **Sugestivo:** pleurite granulomatosa.

PACIENTES	CULTURA	BAAR	BIÓPSIA	ADA	PCR
1.	-	-	NR	+	+
2.	-	-	NR	-	+
3.	-	-	NR	-	+
4.	-	-	Sugestivo	+	-
5.	+	-	NR	-	-
6.	-	-	Sugestivo	+	-
7.	-	-	NR	+	-
8.	-	-	NR	-	-
9.	+	-	Sugestivo	+	-
10.	-	-	-	+	+
11.	-	-	-	-	+
12.	-	-	Sugestivo	+	-
13.	+	-	Sugestivo	+	-
14.	-	-	NR	+	-
15.	-	-	-	+	-
16.	-	-	-	+	-