

Confronto fra sei marcatori biologici nella diagnosi di pleurite tubercolare*

Akio Hiraki, MD, PhD; Keisuke Aoe, MD, PhD; Ryosuke Eda, MD, PhD;
Tadashi Maeda, MD, PhD; Tomoyuki Murakami, MD, PhD;
Kazuro Sugi, MD, PhD; Hiroyasu Takeyama, MD, PhD

Obiettivi dello studio: Abbiamo cercato un marcatore per differenziare i versamenti pleurici tubercolari da quelli non tubercolari, che d'altro canto può risultare di difficile esecuzione.

Pazienti: Abbiamo studiato 55 pazienti con versamento pleurico, 20 (36%) con pleurite tubercolare e 35 (64%) con pleurite ad eziologia non tubercolare.

Metodiche e risultati: Nel liquido pleurico sono stati misurati i livelli di adenosina deaminasi, interferone (IFN)- γ , interleuchina (IL)-12p40, IL-18, proteina acida immunosoppressiva e recettore solubile per IL-2, successivamente sottoposti ad un'analisi ROC (Receiver Operative Characteristic). L'IFN ha mostrato la più elevata sensibilità e specificità per la pleurite tubercolare fra i sei marcatori biologici studiati.

Conclusione: Nella diagnosi di versamento pleurico tubercolare, la determinazione dei livelli di IFN- γ nel liquido pleurico risulta essere la più significativa.

(CHEST Edizione Italiana 2004; 2:17-19)

Parole chiave: citochine; diagnosi; liquido pleurico; pleurite tubercolare

Abbreviazioni: ADA = adenosina deaminasi; AUC = area sotto la curva; IAP = proteina acida immunosoppressiva; IL = interleuchina; INF = interferone; ROC = Receiver Operative Characteristic; sIL-2R = recettore solubile dell'interleuchina 2; TB = tubercolosi

In tutto il mondo la tubercolosi (TB) è l'unica causa di morte più frequente da agente infettivo ed anche la principale causa di versamento pleurico.¹

La diagnosi di pleurite tubercolare dovrebbe essere sempre presa in considerazione in pazienti con versamento pleurico essudativo. Tuttavia, è talvolta difficile stabilire la diagnosi usando solo i metodi convenzionali. È assolutamente necessario avere un marcatore clinico attendibile che permetta la rapida ed accurata diagnosi di pleurite tubercolare.

Per facilitare la diagnosi di pleurite tubercolare sono stati proposti vari marcatori biologici, che includono l'incremento dell'adenosina deaminasi (ADA), dell'interferone gamma (IFN)- γ , dell'interleuchina (IL)-12p40, dell'IL-18, della proteina acida

immunosoppressiva (IAP) e del recettore solubile dell'IL2 (sIL-2Rs), nel liquido pleurico.^{2,3}

Precedenti studi^{2,3} avevano suggerito che questi marcatori erano utili per la diagnosi di pleurite tubercolare. Tuttavia, quale di questi sei marcatori possa essere il più utile per la diagnosi di pleurite tubercolare non è stato determinato.

Per determinare il marcatore con più alto significato diagnostico, abbiamo effettuato un'analisi ROC su questi sei marcatori.

MATERIALI E METODI

Pazienti

Sono stati studiati 55 pazienti ricoverati presso il National Sanyo Hospital nel periodo fra aprile 2000 e settembre 2001. Sono stati raccolti segni clinici e sintomi, dati demografici e radiologici. Le caratteristiche cliniche di questi pazienti sono riportate in Tabella 1. Il gruppo studiato includeva 42 uomini e 13 donne, con un'età media di 64 anni. 20 pazienti (36%) avevano un versamento tubercolare e 35 (64%) un versamento a diversa eziologia.

Diagnosi di versamento pleurico tubercolare, neoplastico e di altra natura

I versamenti tubercolari venivano diagnosticati quando erano soddisfatti alcuni dei criteri seguenti: bacilli tubercolari isolati

*Dai Departments of Respiratory Medicine (Dott. Hiraki, Aoe, Eda, Maeda e Takeyama) e Clinical Research (Dott. Murakami e Sugi), National Sanyo Hospital, Respiratory Disease Center, Yamaguchi, Giappone.

Manoscritto ricevuto il 10 giugno 2003; revisione accettata il 20 ottobre 2003.

La riproduzione di questo articolo è vietata in assenza di autorizzazione scritta dell'American College of Chest Physicians (e-mail: permissions@chestnet.org).

Corrispondenza: Keisuke Aoe, MD, PhD, Department of Respiratory Medicine and Clinical Research, National Sanyo Hospital, Respiratory Disease Center, 685 Higashi-kiwa, Ube, Yamaguchi 755-0241, Japan; e-mail: keisukeaoe@mtf.biglobe.ne.jp
(CHEST 2004; 125:987-989)

Tabella 1—Caratteristiche dei pazienti

Variabili	Valori
Pazienti n°	55
Sesso n°	
maschi	42
femmine	13
Età media	67
Intervallo di età	22-97
Diagnosi n°	
Tubercolosi	20
Non tubercolare	35
Neoplastico	18
Altre infezioni	4
Patologia cardiaca	2
Artriti reumatiche	2
Patologia renale	1
Da causa sconosciuta	8

nel liquido pleurico o nel tessuto pleurico; granulomi nel tessuto pleurico che mostravano la colorazione per bacilli acido-resistenti; granulomi nel tessuto pleurico che non si coloravano per bacilli acido-resistenti, ma che rispondevano alla terapia antitubercolare; o esame culturale positivo per *M. Tuberculosis* nell'espettorato. I versamenti pleurici neoplastici erano diagnosticati mediante esame citologico del liquido pleurico o esame istologico su prelievo biotipico. Altri versamenti pleurici erano quelli non secondari a TBC né a malattia neoplastica.

Raccolta dei campioni e determinazione dei livelli di ADA, IFN- γ , IL-12, IL-18, IAP e sIL-2Rs

I campioni di liquido pleurico sono stati raccolti durante toracentesi, praticata con consenso informato e sono stati centrifugati a 2000 giri per minuto per 10 minuti. Il soprannatante è stato congelato a -80° C fino all'analisi dei marcatori. L'attività ADA e IAP è stata misurata mediante autoanalisi usando kit disponibili in commercio. IL18, IFN- γ e sIL2R sono stati misurati median-

te un kit ELISA disponibile in commercio. IL-12p40 è stata misurata mediante un kit ELISA "sandwich" disponibile in commercio.

Analisi statistica

Per confrontare l'utilità dei marcatori, sono state costruite curve ROC.⁴

RISULTATI E DISCUSSIONE

La diagnosi differenziale fra versamenti pleurici tubercolari e non tubercolari è un problema clinico critico e i metodi convenzionali si sono rivelati essere inadeguati. L'esame diretto del liquido pleurico con colorazione di Ziehl-Neelsen ha mostrato bassa sensibilità. Sebbene l'esame culturale abbia una maggiore sensibilità, sono necessarie diverse settimane per la crescita del *M. Tuberculosis*. La sensibilità della biopsia pleurica è più alta di quella della toracentesi, sia con esame culturale che con esame istologico. Tuttavia, una biopsia richiede maggiore esperienza ed è più invasiva e l'esame dei campioni biotipici è soggetto ad errori di campionatura.⁵

Il livello pleurico di una serie di marcatori biologici è stato proposto come ausilio alla diagnosi di pleurite tubercolare, includendo quelli di ADA, IFN- γ , IL12p40, IL18, IAP e sIL-2R, i cui livelli sono tutti significativamente più elevati nei versamenti tubercolari che non in quelli non tubercolari.^{2,3} Tuttavia, la sensibilità di questi marcatori non è mai stata confrontata direttamente.

Come mostrato in Figura 1, l'analisi ROC ha dimostrato che l'IFN- γ è il più sensibile e specifico indicatore di pleurite tubercolare rispetto a questi

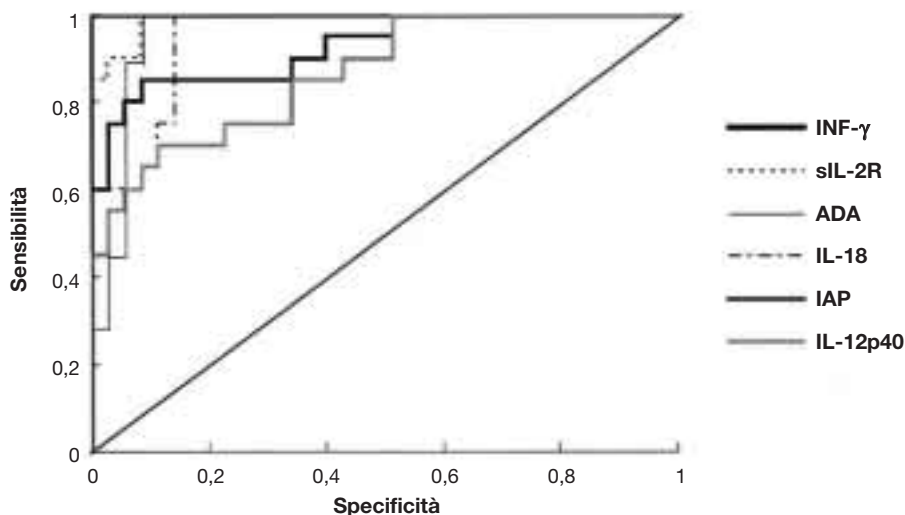


FIGURA 1. Analisi ROC. Le concentrazioni di INF- γ nel liquido pleurico sono più utili per la diagnosi differenziale di pleurite tubercolare se paragonate con ADA, INF- γ , IL-12p40, IL-18, IAP e sIL-2Rs.

sei marcatori biologici (area sotto la curva). Seguiva per maggiore sensibilità sIL-2R (AUC, 0,990), seguito da ADA (AUC, 0,958), IL-18 (AUC, 0,949), IAP (AUC, 0,926) e IL-12p40 (AUC, 0,866). L'IFN- γ è prodotto dai linfociti T in risposta a stimolazione con antigeni specifici e non specifici, ed è in grado di modificare la risposta di altre cellule del sistema immunitario.⁶ L'IFN- γ attiva i macrofagi i quali incrementano il loro potere battericida contro il *M. Tuberculosis*. Dunque, i livelli di IFN- γ nel liquido pleurico possono riflettere la stimolazione dei linfociti T da parte del *M. Tuberculosis*.

In conclusione, l'IFN- γ è il più sensibile e specifico marcatore biologico di pleurite tubercolare fra i sei esaminati. Il dosaggio dei livelli dell'IFN- γ all'inizio dell'essudazione pleurica può facilitare la diagnosi precoce di pleurite tubercolare. L'IFN- γ dovrebbe essere misurato routinariamente nei pazienti che presentano sospetta malattia tubercolare, anche se presenta un costo relativamente alto, in rapporto all'analisi dell'ADA. Inoltre, sono necessari ulteriori studi che mettano in relazione questi marcatori biologici con le PCR (Polymerase Chain Reaction) per la ricerca del DNA del *M. Tuberculosis* nel liquido pleurico.

RINGRAZIAMENTI: Vorremmo ringraziare i Dottori M. Moriyama, H. Kohara, K. Makihata, K. Takao e K. Murakami per aver fornito i casi clinici ed aver valutato criticamente il lavoro.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Raviglione MC, Luelmo F. Update on the global epidemiology of tuberculosis. *Curr Issues Public Health* 1996; 2:192-197
- 2 Aoe K, Hiraki A, Murakami T, et al. Diagnostic significance of interferon- γ in tuberculous pleural effusions. *Chest* 2003; 123:740-744
- 3 Hiraki A, Aoe K, Matsuo K, et al. Simultaneous measurement of T-helper 1 cytokines in tuberculous pleural effusion. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7:1172-1177
- 4 Metz CE. Basic principles of ROC analysis. *Semin Nucl Med* 1978; 8:283-298
- 5 Barbas CS, Cukier A, de Varvalho CR, et al. The relationship between pleural fluid findings and development of pleural thickening in patients with pleural tuberculosis. *Chest* 1991; 100:1264-1267
- 6 Green JA, Cooperband SR, Kibrick S. Immune specific induction of interferon production in cultures of human blood lymphocytes. *Science* 1969; 164:1415-1417