ARTIGO DE REVISÃO / *REVIEW ARTICLE*

O papel da biopsia aspirativa na avaliação de linfadenomegalias em doentes com infecção por VIH

The role of fine needle aspiration biopsy in the evaluation of lymphadenopaty in HIV-infected patients

/ A. Ferreira[1] / R. Serrão[1] / R. Marques[1]
/ S. Silva[1] / S. Xerinda[1] / C. Piñeiro[1]
/ A. Prisca[1] / S. Rocha Silva[1]
/ I. Amendoeira[2] / H. Barroca[2]
/ D. Pinheiro[3] / T. Carvalho[3] / A. Sarmento[1]

[1] Serviço de Doenças Infecciosas
[2] Serviço de Anatomia Patológica
[3] Laboratório de Microbiologia do Serviço de Patologia Clínica. Hospital de S. João, Porto

Correspondência:
Rui Marques
Serviço de Doenças Infecciosas
Alameda Prof. Hernâni Monteiro
4202-451 Porto
Telefone: 225512389
Fax: 225512216
e-mail: rmarques@hsjoao.min-saude.pt

/ Resumo

As linfadenomegalias são um achado frequente no exame físico dos doentes com infecção por VIH. Em Portugal, a tuberculose é a infecção oportunista definidora de SIDA mais frequente e o envolvimento ganglionar é comum nestes doentes, pelo que é importante o rápido esclarecimento etiológico de adenomegalias nesta população. A biopsia aspirativa é um método minimamente invasivo, que permite, em doentes no ambulatório, a colheita de material para estudo citológico e microbiológico. Neste estudo de 524 amostras, colhidas em doentes com défice imunitário moderado/grave – contagem média dos linfócitos T CD4+ de 330±231/mm^3 – este procedimento permitiu diagnosticar tuberculose ganglionar em 120 (23%) dos casos. Na maioria das amostras (55%) foi encontrado um padrão citológico de hiperplasia linfóide reactiva. O diagnóstico de linfoma, confirmado por biopsia excisional, foi efectuado em 10 casos. Em 96 (18%) das amostras o material obtido foi considerado inconclusivo ou insuficiente para o diagnóstico citológico. A biopsia aspirativa revelou ser um método simples, seguro e eficaz na avaliação de linfadenomegalias periféricas em doentes com infecção por VIH, permitindo evitar, na maioria dos casos, a biopsia excisional. A tuberculose, uma infecção oportunista frequente na nossa população, pôde ser correcta e rapidamente identificada e prontamente tratada.

Palavras-chave: adenomegalia, biopsia aspirativa, VIH

/ *Abstract*

Lymphadenopathy is a very common clinical finding in HIV-infected patients. In Portugal, where tuberculosis remains the main AIDS defining opportunistic infection, the etiologic diagnosis of enlarged lymph nodes is a major problem. Fine-needle aspiration biopsy (FNAB) of enlarged lymph nodes is a simple technique that can be performed on an outpatient basis and the collected material is suitable for cytologic and microbiologic studies. In this study of 524 samples, obtained from patients with moderate/severe immunodeficiency – mean CD4 cell count 330±231 cells/mm^3 – this procedure established the diagnosis of lymph node tuberculosis in 120 (23%) cases. Most samples (55%) were consistent with reactive lymphoid hyperplasia. Lymphoma, confirmed by excisional biopsy,

was diagnosed in 10 patients. In 96 (18%) samples the obtained material was considered inconclusive or insufficient for a cytologic diagnosis. Fine needle aspiration biopsy was found to be a simple, safe and reliable evaluating procedure for lymphadenopaties in HIV-infected patients, sparing, for most patients, a lymph node excision. A major opportunistic infection, tuberculosis, could be correctly identified and promptly treated.

Key-words: *Lymphadenopathy, fine-needle aspiration biopsy, HIV*

/ Introdução

As linfadenomegalias são um achado frequente no exame físico dos doentes com infecção por VIH. Entre as entidades causadoras, incluem-se a linfadenomegalia generalizada persistente (LGP) associada à infecção VIH, diversas infecções oportunistas e neoplasias. Sendo a tuberculose a doença definidora de SIDA mais comum em Portugal[1], muitas vezes apresentando-se com atingimento ganglionar, o rápido diagnóstico etiológico de linfadenomegalias nesta população assume particular importância.

A biopsia aspirativa (BA) tornou-se o principal método de investigação de manifestações ganglionares em doentes com infecção por VIH. A BA é uma técnica simples e rápida[2-4]. A sua fácil execução torna-a particularmente útil no estudo de linfadenopatias periféricas em ambulatório, potencialmente diminuindo a necessidade de biopsia excisional.

O objectivo deste estudo foi avaliar a utilidade do exame citológico de material obtido pela biopsia aspirativa por agulha fina, na abordagem diagnóstica de adenopatias periféricas em doentes com infecção por VIH.

/ Doentes e Métodos

O estudo, retrospectivo, decorreu no Serviço de Doenças Infecciosas do Hospital de S. João e incluiu todos os doentes infectados por VIH, observados entre 1997 e 2006, que foram submetidos a BA ganglionar. Foram revistos os boletins clínicos e os registos informáticos destes doentes, sendo considerados o estádio clínico (de acordo com os critérios de classificação dos CDC), os dados demográficos, epidemiológicos, imunológicos e virológicos no momento do procedimento.

A maioria dos exames foi realizada em ambulatório, após ter sido obtido o consentimento informado do doente.

Utilizou-se o método de biopsia por agulha fina de 22G (0,7mm) e seringa de 10 mL acopolada a sistema de suporte de seringas Cameco®. A técnica foi executada por um infecciologista, respeitando as medidas de segurança indicadas, nomeadamente uso de luvas, máscara e óculos de protecção. Foram realizadas, em média e por rotina, duas punções em cada doente.

O material recolhido foi enviado para estudo citológico e microbiológico. Após 1999, foi também efectuada pesquisa do ADN do *Mycobacterium tuberculosis* (Mt) por *polimerase chain reaction* (PCR). O material para estudo citológico foi colocado em lâminas fixadas em álcool a 95% para coloração com hematoxilina-eosina e/ou histoquímica (Ziehl-Neelsen, Grocott, PAS), e seco ao ar para coloração com Giemsa (Figura 1). A partir de 2003 procedeu-se também à lavagem das agulhas em PBS e envio para estudo imunofenotípico.

O diagnóstico citológico dos linfomas foi efectuado com recurso a estudo imunocitoquímico e/ou imunofenotipagem.

Para estudo microbiológico a amostra é previamente descontaminada e concentrada. Até Abril de 1998 a amostra era semeada em meio sólido de Löwenstein-Jensen e em meio líquido de Middlebrook 7H12, com leitura no sistema BACTEC 460 TB [7]. Após essa data passou a ser utilizado o sistema BACTEC MGIT 960

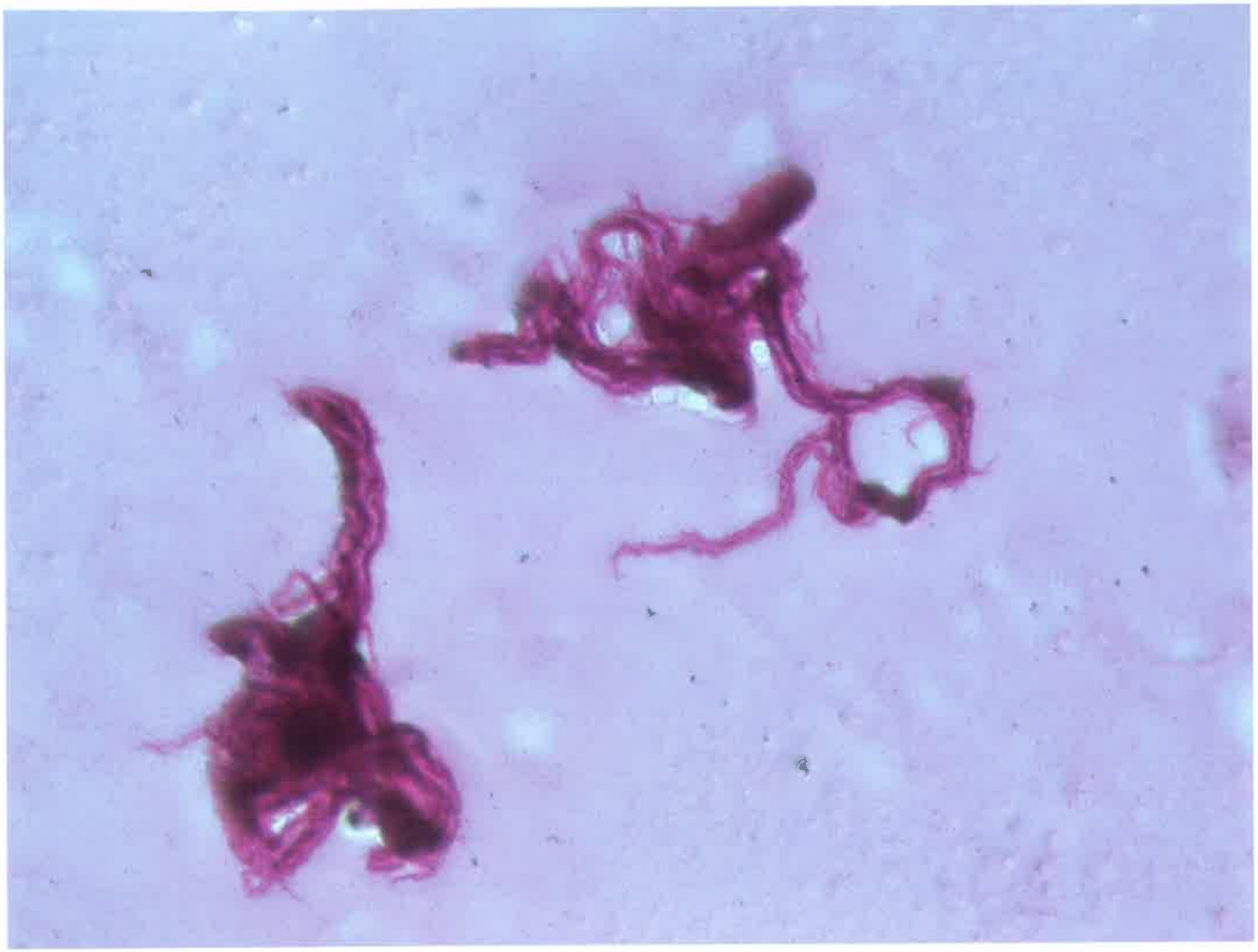


Figura 1: Esfregaço de cultura em meio MGIT - BAAR's com morfologia em corda.

(Figura 2), com positividade confirmada pelo método de Ziehl-Neelsen e identificação efectuada por técnicas de hibridização de ácidos nucleicos, com determinação sistemática da sensibilidade da micobactéria aos antibacilares.

/ Resultados

Foram realizadas 524 BA em 412 doentes, com idade média de 34 ±10 anos; 4 doentes eram crianças com menos de 13 anos de idade. A maioria dos doentes (74%) era do sexo masculino. O local de punção mais comum foi o axilar (65%).

Quatrocentos e quatro (98%) doentes estavam infectados por VIH -1 e os restantes por VIH-2. O factor de risco de aquisição da infecção por VIH foi a toxicodependência endovenosa em 262 (64%) doentes, em 146 (35%) o risco foi sexual; em 3 doentes a via de transmissão foi vertical e transfusional em um doente.

Vinte e quatro por cento dos doentes tinham tido previamente uma infecção oportunista definidora de SIDA.

Na altura do procedimento a contagem média dos linfócitos T CD4+ nos doentes adultos era de 330±231/mm^3 (variação: 1 - 1575/mm^3). Nos doentes com infecção por VIH-1, a carga vírica média era de 148490±184286 cópias ARN-VIH/mL (variação: 204±747000 cópias/mL), 18% dos doentes tinham carga vírica indetectável no plasma e 12% tinham carga vírica superior a 750000 cópias ARN-VIH/mL.

A descrição dos diagnósticos efectuados pode ser encontrada na tabela 1. O padrão de hiperplasia linfóide reactiva foi encontrado em 287 (55%) amostras.

A tuberculose foi diagnosticada em 120 (23%) amostras, tendo o diagnóstico sido baseado em (um ou mais critérios): demonstração de BAAR pelo método Ziehl-Neelsen (n= 51), padrão granulomatoso/necrose caseosa (n= 94), pesquisa positiva de ADN-Mt por PCR (n= 44) e exame cultural positivo (n= 75).

Nas 94 amostras com padrão citológico granulomatoso/necrose caseosa,

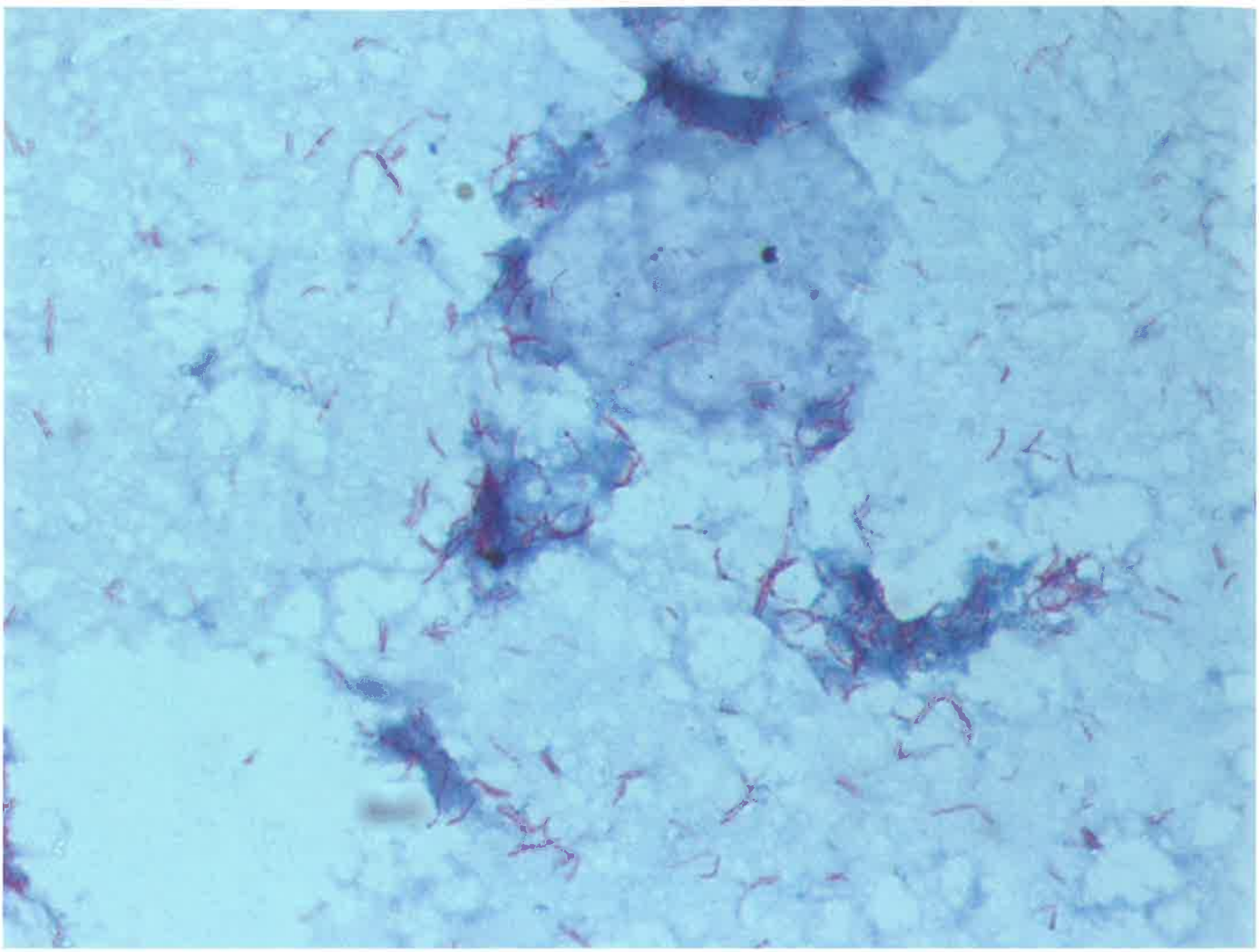


Figura 2: Exame micobacteriológico directo - identificação de BAARs.

o diagnóstico de tuberculose teve confirmação microbiológica (positividade de um ou mais métodos) em 75 amostras (80% dos casos): pesquisa de BAAR por Ziehl-Neelsen em 41 amostras, pesquisa de ADN-Mt por PCR em 36 e exame cultural para Mt em 50. Em 19 amostras (20%) o exame microbiológico foi negativo (tabela 2). Em 22 das 287 (8%) amostras com padrão citológico de hiperplasia linfóide reactiva foi efectuado o diagnóstico de tuberculose (tabela 3), baseado na positividade de (um ou mais métodos): pesquisa de BAAR por Ziehl-Neelsen (n=5), pesquisa de ADN-Mt por PCR (n=3) e exame cultural (n=17).

Globalmente, os diagnósticos de tuberculose foram baseados na positividade de estudos microbiológicos em 84% dos casos.

Os outros diagnósticos efectuados foram: linfoma em 10 casos, doença disseminada por *Mycobacterium avium* complex (MAC) em 5, cisto branquial e sarcoma de Kaposi em 2 cada, carcinoma epidermóide e lipoma em 1 doente cada.

Em 96 (18%) BA o material obtido foi considerado inconclusivo ou insuficiente para o diagnóstico citológico. Em nenhum destes doentes veio posteriormente a ser efectuado um diagnóstico de infecção ou de neoplasia oportunista.

/ Discussão

O diagnóstico rápido das complicações da infecção VIH é muitas vezes atrasado por estas poderem ocorrer com manifestações clínicas não específicas.

O tecido linfóide é o principal compartimento anatómico onde ocorre a replicação do VIH e a presença de linfadenomegalias é muito comum nesta população, na maioria dos casos associada a linfadenomegalia generalizada persistente (LGP). Contudo, é muitas vezes difícil efectuar um diagnóstico diferencial entre esta entidade benigna e uma causa infecciosa ou neoplásica nestes doentes.

Em Portugal, a tuberculose, isoladamente, constitui a infecção oportunista definidora de SIDA mais frequente – 43,5% dos casos de SIDA [1] – e é comum o atingimento ganglionar [9], em doentes com infecção por VIH e tuberculose extra-pulmonar [8]. Em populações com elevada prevalência de tuberculose, mesmo as linfadenomegalias simétricas e pequenas, geralmente associadas a LGP, podem ser de etiologia tuberculosa em cerca de 12% dos casos [10].

A BA ganglionar é um método simples, minimamente invasivo e de baixo custo, que permite a colheita de material ganglionar para estudo citológico, microbiológico, imunofenotípico, molecular, etc. Neste estudo de 524 amostras, a LGP foi, como noutras séries [11,12], a causa mais comum de linfadenomegalias nesta população. Com o uso de critérios mais selectivos para a execução de BA, a frequência deste diagnóstico citológico benigno (hiperplasia linfóide reactiva) iria, provavelmente, baixar, mas com risco potencial de não identificar uma doença grave, de tratamento relativamente fácil. Por outro lado, a demonstração de um processo benigno contribui para a tranquilização do doente.

A tuberculose foi a etiologia infecciosa mais frequente na nossa série. Nos doentes com infecção por VIH, principalmente nos gravemente imunodeprimidos, a possibilidade de atingimento ganglionar pelo processo bacilar é elevada, aumentando a probabilidade de obter uma citologia positiva através da BA [13]. Estão descritos três padrões citológicos de linfadenite bacilar [14]: presença de granulomas, necrose e necrose com granulomas. Em populações com elevada prevalência de tuberculose, a presença de granulomas, mesmo sem demonstração de BAARs, é sugestiva de tuberculose [15,16]. O nosso estudo sublinha a importância do exame microbiológico concomitante: 22 (8%) das amostras com padrão citológico benigno vieram a revelar-se positivas para *Mycobacterium tuberculosis*.

A identificação de MAC em 5 amostras é consistente com o facto de 32% dos nossos doentes apresentarem uma imunodeficiência grave.

A neoplasia mais frequente foi o linfoma e em apenas dois casos foi feito o diagnóstico de sarcoma de Kaposi. Foi realizada biopsia excisional, para confirmação, em todos os aspirados com diagnóstico de linfoma - 5 linfomas de Hodgkin e 5 linfomas não-Hodgkin.

Dezoito por cento das amostras foram inconclusivas, a maior parte das quais por material escasso ou inadequado. Esta percentagem reflecte as limitações do procedimento na prática clínica diária, relacionadas com a mobilidade e/ou o pequeno tamanho, ou resolução das linfadenomagalias, na altura da aspiração. A hipersensibilidade local de alguns doentes pode também contribuir para dificultar a aspiração do material. Outra causa possível é a baixa celularidade dos gânglios numa das fases da LGP.

Existem questões de segurança associadas à realização deste procedimento, efectuado em doentes com VIH e potencialmente co-infectados por vírus da hepatite C ou B. Embora o risco mais óbvio para o profissional de saúde ao executar uma biopsia com

TABELA 1. DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO OBTIDO EM 524 AMOSTRAS GANGLIONARES DE BIOPSIAS ASPIRATIVAS

Diagnóstico	Nº de amostras	%
Hiperplasia linfóide reactiva	287	54,8
Tuberculose	120	22,9
Doença disseminada por MAC	5	0,9
Linfoma	10	1,9
Sarcoma de Kaposi	2	0,4
Cisto branquial	2	0,4
Lipoma	1	0,2
Carcinoma epidermóide	1	0,2
Não conclusivo	96	18,3
Total	524	100

TABELA 2. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DAS AMOSTRAS COM PADRÃO GRANULOMATOSO/NECROSE CASEOSA

Exame	Amostras com padrão granulomatoso/necrose caseosa (Nº amostras = 94)	
	Nº	%
Ziehl-Neelsen positivo*	41	44
PCR DNA-Mt positivo*	36	38
Cultura positiva (Mt)*	50	53
Microbiológico negativo	19	20

* Positividade de um ou mais métodos

TABELA 3. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE TUBERCULOSE EM AMOSTRAS COM PADRÃO DE HIPERPLASIA LINFÓIDE REACTIVA

Exame microbiológico positivo*	Padrão hiperplasia linfóide reactiva (N=22)	
	Nº	%
Ziehl-Neelsen	5	23
PCR DNA-Mt	3	14
Cultura (Mt)	17	77

* Os exames microbiológicos foram negativos em 265 das 287 (92%) amostras com padrão citológico de hiperplasia linfóide reactiva

agulha fina, seja o da picada acidental, não deve ser esquecido o risco de exposição ao *Mycobacterium tuberculosis*, devendo ser implementadas medidas adequadas de protecção, incluindo o uso de técnica adequada para evitar a aerossolização de agentes infecciosos na preparação das lâminas.

Em conclusão, a BA é um método simples, seguro e eficaz na avaliação de linfadenomegalias em doentes com infecção por VIH, evitando na maioria dos casos a biopsia excisional. A tuberculose, uma infecção oportunista frequente, pode ser correcta e rapidamente identificada e prontamente tratada.

/ Bibliografia

1 - Centro de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmissíveis; Doc. 138, Junho 2007

2 - Gleeson M, Herbert A, Richards A. "Management of lateral neck masses in adults." *BMJ* 320:1521-4, 2000

3 - Gupta AK, Nayar M, Chandra M. "Reliability and limitations of fine needle aspiration cytology of lymphadenopathies." *Acta Cytol* 35:777-83, 1991

4 - Ramzy I, Rone R, Schultenover SJ et al. "Lymph node aspiration biopsy. Diagnostic reliability and limitations - an analysis of 350 cases." *Diagn Cytopathol* 1:39-45, 1985

6 - Hsu SM, Raine L, Fanger H. "A comparative study of the peroxidase-antiperoxidase method and an avidin-biotin complex method for studying polypeptide hormones with radioimmunoassay antibodies." *Am J Clin Pathol* 75:734-8, 1981

7 - Nolte FS, Metchock B: *Mycobacterium in manual of Clinical Microbiology*; Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC e Yolken RH, 6th Edition, Washington DC, American Society for Microbiology: 400-37, 1995.

8 - Chaisson RE, Schecter GF, Theuer CP, et al. "Tuberculosis in patients with the Acquired Immunodeficiency Syndrome. Clinical features, response to therapy and survival." Am *Rev Resp Dis* 136:570-4, 1987

9 - Shafer RW, Kim DS, Weiss JP, et al. "Extrapulmonary tuberculosis in patients with Human Immunodeficiency Virus infection." *Medicine* 70:384-97, 1991

10 - Bem C, Patil PS, Bharucha H, et al. "Importance of human immunodeficiency virus-associated lymphadenopathy and tuberculous lymphadenitis in patients undergoing lymph node biopsy in Zambia." Br *J Surg* 83:75-8, 1996

11 - Bottles K, McPhaul LW, Volberding P. "Fine-needle aspiration biopsy of patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS): experience in an outpatient clinic." *Ann Intern Med* 108:42-5, 1988

12 - Grossl NA, Mosunjac MI, Wallace TM. "Utility of fine needle aspiration in HIV-positive patients with corresponding CD4 counts. Four years experience in large inner city hospital." *Acta Cytol* 41:811-6, 1997

13 - Dandapat MC, Mishra BM, Dash SP et al. "Peripheral lymph node tuberculosis: a review of 80 cases." Br *J Surg* 77:911-2, 1990

14 - Llatjos M, Romeu J, Clotet B, et al. "A distinctive cytologic pattern for diagnosing tuberculous lymphadenitis in AIDS." *J Acquir Immune Defic Syndr* 6:1335-8, 1993

15 - Lee KC, Tami TA, Lalwani AK, Schecter G. "Contemporary management of cervical tuberculosis." *Laryngoscope* 102:60-4, 1992

16 - Lau SK, Wei WI, Hsu C, et al. "Efficacy of fine needle aspiration cytology in the diagnosis of tuberculosis lymphadenopathy." *J Laryngol Otol* 104:24-7, 1990