

# Novos Métodos no Diagnóstico da Tuberculose Pleural

Denise Duprat Neves

## Introdução

Até a década de 40, estávamos limitados a registrar o comportamento epidemiológico da tuberculose e a tentar explicar sua evolução mas, atualmente, podemos atuar de forma mais dinâmica contra a doença. Houve uma queda da mortalidade, mas não ocorreu uma diminuição proporcional na incidência e na morbidade<sup>8</sup>. Isto pode ser conseguido através do diagnóstico precoce e do tratamento correto, o que induzirá benefício não só ao paciente em questão, mas também permitirá uma diminuição da transmissibilidade da bacilo, evitando-se novos casos. Existe uma relação inversa entre o risco de infecção e o índice sócio-econômico, mas mesmo nos países desenvolvidos, onde a tuberculose estava sob controle ou em declínio, a prevalência voltou a aumentar na última década, provavelmente em decorrência do surgimento e disseminação da AIDS<sup>50</sup>.

Nestes casos, a forma extrapulmonar é mais freqüente, sendo concomitante ou não a forma pulmonar.

Nas formas extra-pulmonares há maior dificuldade em se confirmar o diagnóstico, pois o isolamento do bacilo nem sempre é possível, quer pela inacessibilidade ao local da lesão, quer por estas serem paucibacilares. Na maioria dos casos o diagnóstico de certeza é baseado no exame histopatológico, o que é difícil nos pacientes imunocomprometidos que não formam granulomas.

Devido às dificuldades para a elucidação etiológica de uma doença que é uma endemia mundial, tem-se realizado diversas pesquisas na busca de novos métodos para o diagnóstico da tuberculose. Muitos destes podem ajudar no diagnóstico das formas extra-pulmonares. Como o derrame pleural é a manifestação extrapulmonar mais comum da tuberculose, conseqüentemente é um dos mais estudados.

## Adenosina Desaminase (ADA)

A dosagem da ADA tem sido a esperança de um método bioquímico simples para se estabelecer o diagnóstico da tuberculose, principalmente das formas que acometem as serosas, como o derrame pleural, onde tem se mostrado útil como auxiliar no diagnóstico diferencial, principalmente nas regiões onde a incidência da tuberculose é elevada<sup>18,31</sup>. Já foi pesquisada por diversos autores, em vários líquidos orgânicos, tendo mostrado estar mais elevada no material testado do que no sangue do mesmo paciente. Já se verificou que a atividade da enzima nos derrames é diferente e independente da concentração sérica, indicando que existe síntese local<sup>21,23,36</sup>. A sensibilidade sérica não é tão boa, provavelmente porque apenas espelhe algo ocorrendo em outro local, através de células que recirculam entre o sangue e a cavidade pleural, por exemplo<sup>4</sup>; e a especificidade não é ideal, pois outras doenças que

Professora Adjunta da Universidade do Rio de Janeiro

Endereço para correspondência: Av. Canal de Marapendi, 1680/901 - Barra da Tijuca - 22631-050 - Rio de Janeiro - RJ.

alteram o sistema imune podem ter elevação da atividade sérica da ADA.

A maioria dos trabalhos comprova sua utilidade e recomenda seu uso na rotina de investigação da tuberculose em serosas. Nos casos de comprometimento pleural mostrou uma sensibilidade que varia de 92 a 100% e especificidade de 85 a 97%, dependendo do limiar de discrimine e da amostra de pacientes utilizada. Aceita-se como sugestivo de tuberculose valores > 60U/L, sendo duvidosos os valores entre 40 e 60 U/L. Falsos negativos podem ser observados em fases muito iniciais ou nos pacientes já em tratamento, e os falsos positivos são vistos em alguns casos de doenças linfoproliferativas e nos raros casos de acometimento pleural por artrite reumatóide. Nos empiemas pleurais a ADA tem grande variação, mas nestes casos, como o líquido pleural não tem predomínio de linfócitos, o diagnóstico diferencial com a tuberculose é fácil <sup>4,19,28,34-37,49,52,53</sup>.

Na Tabela I observamos que a dosagem de atividade da ADA, em nossa investigação, mostrou-se mais sensível e com maior valor preditivo negativo que os critérios de certeza utilizados para o diagnóstico da tuberculose pleural, apresentando sensi-

bilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo maior que todos os critérios de probabilidade<sup>31</sup>.

A ADA pode ser de fundamental importância como moduladora da resposta imune. A diminuição congênita da ADA nos humanos está associada a uma síndrome de imunodeficiência grave combinada (SCID), enfermidade conhecida desde 1972, quando descrita por Giblett e colaboradores<sup>17</sup>. A deficiência da ADA se manifesta logo na primeira infância, causando uma severa queda da imunidade, especialmente da mediada por células, mas também da dependente de anticorpo. A SCID pode ser clinicamente confundida com a síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA/AIDS), que é causada por um retrovírus - HIV. Nesta, a ADA sérica encontra-se aumentada, acreditando-se que este aumento esteja correlacionado à presença de anticorpos anti-HIV ou à presença do vírus no organismo, pois a enzima se eleva também nos portadores assintomáticos, embora tenha valores maiores naqueles em estágio avançado da doença<sup>6,13</sup>. A imunodeficiência na SIDA não é resultante da menor atividade da ADA nos linfócitos, como observado

na SCID, mas está associada ao aumento de linfócitos imaturos, com incompetência para a resposta imune, e com valores de ADA nas células significativamente maior do que o normal<sup>44</sup>.

Um estudo envolvendo 30 pacientes HIV positivos, em que foi dosada a ADA no líquido, todos os líquidos que apresentavam proteína e contagem de células normais tinham uma concentração de ADA menor que 4 U/L. O autor conclui que a presença do HIV no líquido não altera o valor da ADA e sugere que uma elevação da enzima seja condizente com tuberculose nesta localização<sup>7</sup>. A dosagem da ADA em 3 casos comprovados de tuberculose meníngea, em pacientes HIV positivos, apresentou valores > 9 U/L (normal variou de 0 - 3,37 U/L), apesar do número significativo de depleção de células T encontrado em 2 destes pacientes, o que confirma inicialmente a possibilidade de se utilizar este método também nos pacientes com SIDA/AIDS <sup>14</sup>.

A dosagem da ADA cada vez mais confirma sua utilidade como método auxiliar simples e rápido, apesar de indireto, no diagnóstico da tuberculose pleural, principalmente nas regiões de alta incidência da doença.

**Tabela I - Critérios para o diagnóstico da tuberculose pleural**

	S	E	VPP	VPN	
Granuloma	86.1	100	100	77.8	Critérios Certeza
Cultura BK Fragmento	40	100	100	54.2	
Cultura BK Líquido Pleural	2	100	100	35	
Cultura BK Escarro	36.8	100	100	40	
ADA > ou = 50 U/L	94.4	92.5	95.8	90.2	Critérios Probabilidade
PPD > ou = 10 mm	73.5	61.1	83.7	45.8	
Linfócitos > ou = 75%	92.6	37.1	74.1	72.2	
Idade < 40 anos	75	67.5	80.6	60	

Atualmente, atenção maior tem sido dada às isoenzimas da ADA. A ADA-1 tem baixo peso molecular, baixa constante de Michaelis, pH ótimo de 7,0 a 7,5, possui afinidade similar para adenosina e 2'-desoxiadenosina, podendo ser totalmente inibida pela eritro-9 (2-hidroxi-3-nonil) adenina. Está presente em todos os tecidos, sendo a única observada nos eritroblasto e no timo. É essencial a uma resposta imune eficiente. A ADA-2 tem um peso molecular maior, alta constante de Michaelis, pH ótimo de 6,5, não apresenta afinidade para a 2'-desoxiadenosina e não é inibida pela eritro-9 (2-hidroxi-3-nonil) adenina. É encontrada nos macrófagos que a liberam quando estimulados pela presença de microorganismos no seu interior<sup>16,40,54</sup>. Acreditamos que a pesquisa das isoenzimas possa auxiliar no diagnóstico diferencial dos derrames pleurais, especialmente quando houver possibilidade das doenças que cursam com ADA elevada no líquido pleural, melhorando a especificidade do método, como observado por Jacobus e colaboradores<sup>21</sup>.

## Elisa para Pesquisa de Anticorpo

A sensibilidade desta técnica para a detecção de anticorpos, especialmente da classe Ig G, no soro tem relação direta com as características do método empregado, a prevalência da tuberculose na região estudada, a extensão e cronicidade da doença (quando mais de 3 meses de sintomas a positividade é maior), e se o BAAR é positivo. Sendo assim, a sensibilidade oscila entre 60 a 80%, sendo

maior nos países em desenvolvimento onde as características estão presentes. A vacinação com o BCG não tem efeito significativo na dosagem do soro de controles saudáveis. A especificidade no soro varia de acordo com o antígeno empregado ficando em torno de 97 a 100%, sendo os valores mais altos alcançados com o emprego de antígenos purificados<sup>3,9-12,22,23,27</sup>. Antígenos específicos ainda não estão totalmente disponíveis para uso rotineiro, mais dois antígenos, já estudados mundialmente, facilmente obtidos e padronizados, como o PPD e o BCG, podem ser utilizados. Assim como a dosagem da ADA é um teste de baixo custo e facilmente realizado, mesmo nos países em desenvolvimento<sup>26</sup>.

Não existem muitos trabalhos de pesquisa de anticorpos pela ELISA em líquidos orgânicos que não o sangue, mas o teste tem sido positivo neste material em pacientes com derrame pleural por tuberculose, mostrando, no entanto, uma baixa sensibilidade mas uma razoável especificidade<sup>29</sup>. Nossa pequena experiência com este método no líquido pleural foi decepcionante, não permitindo a diferenciação etiológica<sup>5</sup>.

Nos pacientes com SIDA/AIDS é esperado uma baixa resposta imunológica e portanto um rendimento menor do método. Isto foi observado em pesquisa de Ig G sérica: Sensibilidade de 94,1% nos pacientes com tuberculose, sem AIDS, e de apenas 37,5% nos portadores de ambas as doenças<sup>15</sup>. Saltini e colaboradores<sup>43</sup> sugerem que a Ig M específica possa ser um marcador melhor nos casos de imunodeficiência grave.

A Ig M surge primeiro no soro dos pacientes com tuberculose e após 4 a 6 meses é gradativamente substituída pela Ig G que persiste por um longo período de tempo. A pesquisa de ambas pode ser útil nos pacientes nos quais o início da doença não pode ser definido. Mais recentemente está se pesquisando a Ig A que mostrou uma boa correlação com tuberculose ativa pulmonar ou extrapulmonar, se tornado positiva com os primeiros sintomas da doença e indicando multiplicação do bacilo<sup>55</sup>. No entanto, esforços devem ser concentrados no estudo de antígenos mais específicos.

## Gama Interferon (IFN) e Fator de Necrose Tumoral (TNF)

O Gama-Interferon (IFN) é uma linfocina que auxilia aos macrófagos na eliminação intracelular da micobactéria. Sua concentração no líquido pleural tem mostrado alta sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo para o diagnóstico diferencial dos derrames pleurais, estando elevada nos casos de tuberculose<sup>1,41,51</sup>, mesmo em pacientes imunocomprometidos<sup>42,44</sup>. Dosado por técnica ELISA ou RIA, de modo simples e custo relativamente baixo. Já foi pesquisado, a exemplo da ADA, em outros líquidos de serosas com os mesmos bons resultados<sup>42,44</sup>. A sensibilidade variou de 94 a 100% enquanto a especificidade ficou entre 91,8% a 100%<sup>1,51</sup>. Existe controvérsia sobre a sua correlação com os valores da ADA<sup>34,36</sup> e parece não haver correlação com o tipo de linfócito presente no líquido pleural<sup>41</sup>. Maiores estudos são ne-

cessários para seu uso na rotina de investigação do derrame pleural, e sobre sua utilidade nos pacientes imunocomprometidos.

O Fator de Necrose Tumoral (TNF) estimula a fagocitose pelos macrófagos e possivelmente aumenta a sua capacidade microbicida. A necrose caseosa, característica da tuberculose, pode ser devida a seus efeitos em resposta a componentes da parede da micobactéria<sup>56</sup>. Assim como a ADA e INF tem maior concentração no líquido pleural secundário à tuberculose do que no soro do mesmo paciente. Seu aumento não é específico, mas pode auxiliar no diagnóstico.

## Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)

A reação em cadeia de polimerase (PCR) baseia-se na amplificação do DNA do microorganismo, criando milhões de cópias deste material. Pode, em teoria, detectar até um bacilo no material examinado, em contraste com a cultura para BK que requer 100 a 1.000 bacilos/ml, enquanto que o exame direto necessita de no mínimo 5.000 a 10.000 bacilos/ml. Ainda é um teste caro, com técnica relativamente trabalhosa. Resultados falso positivos podem surgir em decorrência da contaminação do material testado durante sua manipulação no laboratório e a presença de inibidores da reação são capazes de levar a resultado falso negativo<sup>24</sup>. É um teste com grande variabilidade entre diferentes laboratórios<sup>34</sup>, devendo ser padronizado e vigiado. É capaz de identificar bacilos mortos ou metabolicamente inativos; positividade pode ser obti-

da mesmo após meses do início do tratamento; sendo assim, o teste não é capaz de diferenciar indivíduos tratados previamente, ou mesmo os infectados, dos pacientes com doença ativa<sup>38,39,45,47</sup>.

No líquido pleural, teoricamente, pode-se esperar um bom rendimento deste método, uma vez que este material, na ausência de infecção, é estéril. A sensibilidade varia de 100%<sup>20</sup> a 52,9%<sup>48</sup> mas, sem dúvida, ainda útil por ser muito maior que da cultura para BK e BAAR. Como o derrame pleural pode ser apenas uma reação do hospedeiro a uma lesão pulmonar, a sensibilidade do método vai depender se a infecção é primária, maior possibilidade de ser secundário à hipersensibilidade, ou se por reativação quando existe maior chance de se encontrar bacilos no líquido pleural e, conseqüentemente, positividade do exame<sup>25,38</sup>.

Já foi detectado no sangue de pacientes com tuberculose pulmonar comprovada, mas não no de indivíduos sadios PPD reator<sup>45,46</sup>. Isto possibilitaria seu uso nos pacientes sem expectoração ou com doença extrapulmonar, mas merece maiores investigações.

Como detecta microorganismo tem bom potencial, mesmo nos imunodeprimidos. Verificou-se menor sensibilidade nos HIV positivos quando pesquisado no escarro, mas maior positividade no sangue deste indivíduo do que nos HIV negativos<sup>32</sup>.

## Bactec

Técnica radiométrica de detecção do dióxido de carbono produzido pelo crescimento do

bacilo em cultura. Tem, como vantagem, a redução do tempo para o diagnóstico definitivo para menos de 10 dias em contraste com os 45 dias da cultura convencional, mas é um método caro<sup>26</sup>. Pode ser útil também na realização do teste de sensibilidade às drogas. No auxílio para o diagnóstico do derrame pleural tem papel na confirmação do diagnóstico mas com uma sensibilidade ainda baixa para ser usado com método isolado para o diagnóstico (positividade semelhante à da cultura convencional).

Nos pacientes com AIDS teoricamente tem um rendimento igual ou até melhor, em conseqüência da maior população bacilar, ao dos imunocompetentes.

## Conclusão

Nas últimas décadas, vários autores têm-se dedicado à busca e ao aperfeiçoamento de métodos alternativos para o diagnóstico da tuberculose, baseados na identificação de produtos do bacilo ou em alterações imunobioquímicas induzidas por estes. No entanto, após mais de 100 anos da identificação do bacilo e apesar de todo o avanço tecnológico, o diagnóstico da tuberculose ainda é confirmado pelo encontro do bacilo no material testado. A Tabela II mostra a comparação entre as técnicas com relação ao custo, tempo de execução e eficiência no diagnóstico. O teste ideal deveria possuir as seguintes características: alta sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo, resultado rápido, técnica simples e de baixo custo, resultado idêntico na mesma amostra e em diferentes laboratórios.

**Tabela II** - Comparação entre as técnicas no diagnóstico da tuberculose pleural

Técnica	Custo	Tempo	Eficiência
BAAR*	Baixo	Horas E = Alta	S = Baixa
Cultura BK*	Médio	Mês	S = Razoável E = Alta
Bactec**	Alto	Semana	S = Razoável E = Alta
PCR***	Alto	Horas	S e E = Alta
Elisa-AC****	Baixo	Dia	S = Baixa E = Alta
INF*****	Médio	Dia	S e E = Alta
ADA*****	Baixo	Horas	S = Alta E = Razoável

S: sensibilidade e E: especificidade

\* Métodos tradicionais, usados de rotina

\*\* Substitui a cultura convencional, (menor tempo mas maior custo)

\*\*\* Muito promissor, mas ainda caro e trabalhoso. Interpretação cuidadosa.

\*\*\*\* Utilidade maior na dosagem sérica, antígenos mais específicos

\*\*\*\*\* Ainda merece maiores estudos

\*\*\*\*\* Já utilizada de rotina como auxiliar no diagnóstico em localização de serosas

Nenhum destes métodos isolados pode ser considerado ideal, pois não apresenta eficiência diagnóstica tal que permita seu emprego isoladamente, mas a associação de métodos com características diferentes, e com os métodos tradicionais pode auxiliar num diagnóstico mais rápido e seguro, contribuindo inclusive para diminuir o número de derrames sem diagnóstico que permanece em torno de 15 a 20% dos casos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AOKI, Y. et al. - A comparison study of IFN-gama, ADA and CA 125 as the diagnostic parameters in tuberculous pleuritis. *Resp. Med.*, 88: 130-43, 1994.

2. BAGANHA, M. F. et al. - Serum and pleural adenosine deaminase.

Correlation with lymphocytic population. *Chest*, 97(3): 605-10, 1990.

3. BALESTRINO, E. A. et al. - Serodiagnosis of pulmonary tuberculosis in Argentina by ELISA or IgG antibody to Mycobacterium tuberculosis antigen 5 and tuberculin purified protein derivative. *Bull World Health Org.*, 62: 755-61, 1984.

4. BANALES, J. L. et al. - Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusions. A report of 218 patients and review of the literature. *Chest*, 99(2): 355-7, 1991.

5. BARRETO, P. F. et al. - Resultados do teste de ELISA anti-ppd, enzima conversora da angiotensina (ECA) e da adenosina desaminase (ADA) no derrame pleural. *Pulmão RJ*, supl: 34, 1995.

6. CHRISTENSEN, L. D. et al. - Decreased B lymphocyte ecto-

5'nucleotidase and increased adenosine deaminase in monocuclear cells from patients infected with human immunodeficiency virus. *APMIS*, 96(10): 882-8, 1988.

7. CLOTET, B. et al. - Adenosina deaminase (ADA) values in cerebrospinal fluid of asymptomatic HIV infected patients. Trabalho apresentado na Conferencia Internacional de AIDS/SIDA de 1990.

8. CONTROLE DA TUBERCULOSE - Uma proposta de integração ensino-serviço. 2ª ed. Ministério da Saúde, Secretaria Nacional de Programas Especiais de Saúde, Fundação Universitária José Bonifácio e Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1989. 102 p.

9. DANIEL, T. M.; DEBANNE, S. M.; VANDERKUYP, F. - Enzyme-linked immunosorbent assay using Mycobacterium tuberculosis antigen 5 and PPD for the diagnosis of tuberculosis. *Chest*, 88: 388-92, 1985.

10. DANIEL, T. M. et al. - Field evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 134: 662-5, 1986.

11. DANIEL, T. M. - Rapid diagnosis of tuberculosis: laboratory techniques applicable in developing countries. *Reviews Infect. Dis.*, 11 (52):S 471-7, 1989.

12. DANIEL, T. M.; DEBANNE, S. M. - The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases by Enzymelinked immunosorbent assay. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 135: 1137-51, 1987.

13. DELIA, S. et al. - Adenosine deaminase activity and acquired

- immunodeficiency syndrome (AIDS). *Clin. Chem.*, 33(9): 1675, 1987.
14. ENA, J. et al. - Adenosina deaminase activity in cerebrospinal fluid: A useful test for meningeal tuberculosis, even in patients with AIDS. *J. Infect. Dis.*, 158(4): 896, 1988.
15. FIGUEIREDO, J. F. C. & MACHADO, A. A. - Reduced anti-*Mycobacterium tuberculosis* antibody response in tuberculosis patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Brazilian J. Med. Biol. Rev.*, 25: 611-8, 1992.
16. GAKIS, C. et al. - Serum and pleural adenosine deaminase activity. Correct interpretation of the findings. *Chest*, 99(6): 1555, 1991.
17. GIBLETT, E. R. et al. - Adenosine deaminase deficiency in two patients with severely impaired cellular immunity. *Lancet*, 2: 1067-69, 1972.
18. GIUSTI, G. - Adenosine deaminase. In: *Methods of Enzymatic Analysis*. New York: H. U. Bergmeyer, Academic Press, 1093-9, 1974. YOKOYAMA, M. M.; TSUBOI, I. - Adenosine deaminase isoenzymes and HIV/HTLV-1 infections. *J. Natl. Cancer Inst.*, 80(9): 698, 1988.
19. HANKIEWICZ, J.; KOTERWA, A. - Adenosine deaminase in effusions. *Mat. Med. Pol.*, 3(36): 180-3, 1978.
20. HAYASHI, M.; NAGAI, A.; KOBAYASHI, K.; SAWAI, T.; KONNO, K. - Utility of polymerase chain reaction for diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Nippon-Kyobu-Shikkan-Gakkai-Zasshi.*; 33(3): 253-6, 1995.
21. JACOBUS, P. J. et al. - Significance of Adenosine Deaminase Activity and its Isoenzymes in Tuberculous Effusions. *Chest*, 94: 33-7, 1994.
22. KARDIJITO, T.; HANDOYO, I.; GRANGE, J. M. - Diagnosis of active tuberculosis by immunological methods. The effect of tuberculin reactivity and previous BCG vaccination on the antibody levels determined by ELISA. *Tubercle*, 63: 269-74, 1982.
23. KIRAN, V. et al. - Efficacy of three mycobacterial antigens in the serodiagnosis of tuberculosis. *Eur. J. Respir. Dis.*, 66: 187-95, 1985.
24. KOX, L. F.; RHIENTHONG, D.; MIRANDA, A. M.; UDOMSANTISUK, N.; ELLIS, K.; VAN LEEUWEN, J.; VAN HEUSDEN, S.; KUIJPER, S.; KOLK, A. H. - A more reliable PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples. *J. Clin. Microbiol.*, 32(3): 672-8, 1994.
25. KUWANO, K.; MINAMIDE, W.; KUSUNOKI, S.; IGIMI, H.; FUJIKI, T.; MATSUBA, K.; HARA, N. - Evaluation of nested polymerase chain reaction for detecting mycobacterial DNA in pleural fluid. *Kansenshogaku-Zasshi.* 69(2): 175-80, 1995.
26. L'HERMINEZ, R. H. - urgent need for a new approach to the diagnosis of tuberculosis in developing countries in the decede of AIDS. *Tropical and Geographical Medicine*, 45(4): 145-9, 1993.
27. MA, Y.; WANG, Y. M.; DANIEL, T. M. - Enzyme-linked immunosorbent assay using mycobacterium tuberculosis antigen 5 for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in China. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 134: 1273-5, 1986.
28. MARITZ, F. J.; MALAN, C.; ROUX, I. - Adenosine deaminase estimations in the differentiation of pleural effusions. *S. Afr. Med. J.*, 62: 556-8, 1982.
29. MURATE et al. - Anti-PPD antibody in pleural effusions. *Chest*, 97(3): 670-3.
30. MURRAY, J. L. et al. - Elevated adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase activity in peripheral blood null lymphocytes from patients with acquired immune deficiency syndrome. *Blood*, 65(6): 1318-23, 1985.
31. NEVES, D. D. - O valor da adenosina desaminase no diagnóstico diferencial dos derrames pleurais. Tese de Mestrado apresentada à Universidade Federal do Rio de Janeiro em 1992 e resumo publicado Pulmão RJ.
32. NIANG-NDIAYE, M.; CAMARA, T.; CISSOKHO, S.; HANE, A. A.; LAUNOIS, P. - Value of PCR in the diagnosis of tuberculosis in samples negative by direct examination in HIV + and HIV patients. *Dakar-Med.*; 38(2): 165-7, 1993.
33. NOORDHOEK, G. T. et al. - Sensitivity and specificity of PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis*: a blind comparison study among seven laboratories. *J. Clin. Microbiol.*, 32(2): 277-84, 1994.
34. OCANÄ, I. et al. - Adenosine deaminase activity in the diagnosis of lymphocytic pleural effusions of tuberculous, neoplastic and lymphomatous origin. *Tubercle*, 67: 141-5, 1986.

- 35.OCANÄ, I. et al. - Adenosine deaminase in pleural fluids. *Chest*, 84(1): 51-53, 1983.
- 36.PETTERSSON, T.; OJALA, K.; WEBER, T.M. - Adenosine deaminase in the diagnosis of pleural effusions. *Acta Med. Scand.*, 215: 299-304, 1984.
- 37.PIRAS, M.A. et al. - Adenosine deaminase activity in pleural effusions: an aid to differential diagnosis. *Brith. Med. J.*, 2(6154): 1751-2, 1978.
- 38.QUEROL, J.M. et al. - Rapid diagnosis of pleura tuberculosis by Polymerase Chain Reaction. *Am. J. Crit. Care Med.*; 152: 1977-81, 1995.
- 39.QUEROL, J. M.; FARGA, M. A.; GRANDA, D.; GIMENO, C.; GARCIA DELOMAS, J. - The utility of polymerase chain reaction (PCR) in the diagnosis of pulmonary tuberculosis.
- 40.RATECH, H. et al. - Differential expression of adenosine deaminase isoenzyme in acute leukemia. *Blood*, 72(5): 1627-32, 1988.
- 41.RIBERA, E. et al. - High level of Interferon Gamma in tuberculous Pleural Effusion. *Chest*, 93 (2): 308-11, 1988.
- 42.RIBERA, E. et al. - Diagnostic value of ascites gamma interferon levels in tuberculous peritonitis. Comparison with adenosine deaminase activity. *Tubercle*; 72: 193-7, 1991.
- 43.SALTINI, C. et al. - Early abnormalities of the antibody response against *Mycobacterium tuberculosis* in human immunodeficiency virus infection. *J. Infec. Dis.*, 168: 1409-14, 1993.
- 44.SATHAR, M.A. et al. - Ascitic fluid Gamma Interfeon concentrations and Adenosine Deaminase activity in tuberculous peritonitis. *GUT*; 36: 419-21, 1995.
- 45.SCHLUGER, N.W.; ROM, W.N. - The Polymerase Chain Reaction in the Diagnosis and Evaluation of Pulmonary Infections. *Am. J. Crit. Care Med.*; 152: 11-6, 1995.
- 46.SCHLUGER, N. W.; CONDOS, R.; LEWIS, S.; ROM, W. N. - Amplification of DNA of *Mycobacterium tuberculosis* from peripheral blood of patients with pulmonary tuberculosis. *Lancet*. 23; 344(8917): 232-3, 1994.
- 47.SCHLUGER, N. W.; KINNEY, D.; HARKIN, T.J.; ROM, W.N. - Clinical utility of the polymerase chain reaction in the diagnosis of infections due to *Mycobacterium tuberculosis*. *Chest*, 105(4): 1116-21, 1994.
- 48.SHI, H. Z.; LI, C. Q.; LONG, X. M. - Polymerase chain reaction for the diagnosis of tuberculous pleural effusion] *Chung-Hua-Chieh-Ho-Ho-Hu-Hsi-Tsa-Chih.*; 17(5): 286-7, 1994.
- 49.STRANKINGA, W.F.M. et al. - Adenosine deaminase activity in tuberculous pleural effusions. A diagnostic test. *Tubercle*, 68:137-40, 1987.
- 50.STYBLO, K. - Aspecto sobre la tuberculosis y la infección VIH a nivel mundial. *Bol Union Tuberc y Enfermed Respir*, 65(1):30-5, 1990.
- 51.VALDÉS, L. et al. - Diagnosis of tuberculous Pleurisy using the biologic parameters Adenosine Deaminase, Lysozyme, and Interferon Gamma. *Chest*, 103: 458-65, 1993.
- 52.VIDAL, R. et al. - Adenosina deaminase (ADA) como marcador de pleuritis tuberculosa. *Bol Union Intern Contra Tuberc*, 61(3): 32, 1986.
- 53.VIDAL, R. P.; BROQUETAS, J. - High adenosine deaminase activity level in pleural effusion. *Chest*, 90: 625, 1986.
- 54.YOKOYAMA, M. M.; TSUBOI, I. - Adenosine deaminase isoenzymes and HIV/HTLV-1 infections. *J. Natl. Cancer Inst.*, 80(9): 698, 1988.
- 55.BANKER, D. D. et al. - Tuberculosis Screening: Usefulness of new kreatech Ig A ELISA test. *Indian J. Med. Scien.*, 41(8): 181-5, 1994.
- 56.BARNES, P.F. et al. - Local Production of Tumor Necrosis Factor and IFN-gama in Tuberculous Pleuritis. *J. Immunol*, 145(1): 149-51, 1990.