

Dosagem do Gama Interferon no Diagnóstico do Derrame Pleural: Avaliação Inicial de Desempenho

Denise Duprat Neves, Ciro Teixeira da Silva Júnior, Paulo César de Amorim Preza, Ricardo Marques Dias e Miguel Aidé (*)

RESUMO

O Gama-Interferon (IFN), linfocina que auxilia os macrófagos na eliminação intracelular da micobactéria, tem sido testado em pacientes com derrame pleural de várias etiologias a fim de se avaliar sua utilidade no diagnóstico diferencial da tuberculose pleural. A sensibilidade de 94 a 100% e a especificidade de 91,8% e 100%. Nosso **objetivo** é observar sua utilidade em uma população com alta prevalência de tuberculose. **Método:** Foram avaliados 45 líquidos pleurais de diferentes pacientes: 34 tuberculose, 5 metástase pleural, 5 transudado 1 LES. A dosagem do IFN foi pela técnica ELISA. **Resultados:** Considerando 500pg/ml como valor de descarte, obtivemos uma sensibilidade = 94,1%, especificidade = 90,9%, valor preditivo positivo = 96,7% e negativo = 75%. A concentração foi significativamente maior no grupo da tuberculose (média de 4.648,82 DP 7.435,86 variando de 100 a 40.364), do que nos grupos dos demais pacientes (média de 247,64 DP 381,73 variando de 67 a 1.318). A adenosina desaminase (ADA), em 21 pacientes, mostrou sensibilidade de 81,7% e especificidade de 100%, considerando-se valores maiores que 40 U/L como indicativo de tuberculose. O antígeno carcino-embrionário (CEA) estava maior 10 ng/L em 3 de 5 pacientes com neoplasia, mas também em 2 de 16 pacientes sem a doença. Não houve correlação entre os valores do IFN e da ADA ($r = 0,103$). **Conclusão:** O IFN é um método simples e útil no auxílio para o diagnóstico da tuberculose pleural. Nós não observamos correlação entre os valores da ADA e IFN, o que ainda é controverso pelo descrito na literatura.

ABSTRACT

The interferon gamma (IFN-gamma), a cytokine that helps macrophages to eliminate the bacilli intracellular, is being measured in patients with pleurisy of various causes to evaluate their diagnostic utility to tuberculosis pleurisy. The sensitivity ranged from 94 to 100 and specificity from 91,8 to 100%. Our **goal** is to test IFN-gamma in a high prevalence area of tuberculosis. **Method:** We studied 45 pleural fluid samples of different patients: 34 patients with tuberculosis, five with neoplastic disease, five with transudate and one with LES. The concentration of IFN-gamma was determined by ELISA method. **Results:** Using a cut off value of $> 500\text{pg/ml}$ gate the assay a sensitivity of 94,1%, a specificity of 90,9%, positive and negative predictive values of 96,7% and 75%, respectively. The value of IFN-gamma were significantly higher in tuberculosis (median of 4648.82 SD 7435.86, varying from 100 to 40364 pg/ml) than those in non-tuberculosis (median 247.64 SD 381.73, varying from 67 to 1318). The adenosine deaminase (ADA) activity was verified in 21 patients with a sensitivity of 81.7% and a specificity of 100%, using a cut-off value of $> 40\text{U/L}$. The carcino-embryonic-antigen (CEA) was great than 10 ng/l in 3 of 5 patients with neoplastic disease and in 2 of 16 patients without it. There were not correlation with the values of IFN-gamma and ADA ($r=0,103$). **Conclusion:** The IFN-gamma level is simple and helpful in distinguishing tuberculosis in pleura. We did not observed correlation between ADA and IFN-gamma value, but it is still controversial in the medical literature.

Palavras-Chaves: Gama Interferon (IFN); Adenosina Desaminase (ADA); Antígeno Carcino-Embrionário (CEA); Derrame Pleural; Tuberculose; Diagnóstico.

Key-Words: IFN-gama; Adenosina deaminase (ADA); Carcinoembryonic antigen; Pleural effusion; Tuberculosis; Diagnosis.

Pulmão-RJ 1998 7 (2); 124-129.

* **Instituições:** Universidade Rio de Janeiro (UNI-RIO), Universidade Federal Fluminense (UFF).

Endereço para correspondência: Prof. Denise Duprat Neves. Rua Mariz e Barros 775, Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, Pneumologia, segundo andar. Tijuca, Rio de Janeiro. CEP 20270-004.

Artigo recebido para publicação no dia 22/04/1998 e aceito no dia 22/05/1998, após revisão.

Introdução

A tuberculose continua sendo um grave problema de saúde pública. Existe uma relação inversa entre o risco de infecção e os índices sócio-econômicos, 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 (1, 2). O controle adequado da doença depende basicamente de um diagnóstico precoce e do tratamento correto, o que induzirá benefício não só ao paciente em questão, mas também permitirá uma diminuição da transmissibilidade do bacilo, evitando-se novos casos. Atualmente, já dispomos de um tratamento eficaz, mas falta-nos meios de diagnóstico mais acurados (2, 3, 4).

Devido às dificuldades encontradas, na prática clínica, para a elucidação diagnóstica de uma doença que é uma endemia mundial, têm-se realizado diversas pesquisas na busca de novos métodos para o diagnóstico da tuberculose (2, 3, 4), baseados na identificação de produtos do bacilo ou em alterações imunobioquímicas induzidas por estes. Mais apesar de todo o avanço tecnológico das últimas décadas, e após mais de 100 anos da identificação do bacilo por Koch, o diagnóstico bacteriológico rápido da tuberculose, na prática, ainda é realizado, na maioria das vezes, pelo encontro do bacilo no material testado pela antiga técnica de Ziehl-Neelsen, que tem uma sensibilidade baixa.

Nas formas extrapulmonares a dificuldade em se confirmar o diagnóstico é ainda maior, pois o isolamento do bacilo nem sempre é possível, quer pela inacessibilidade ao local da lesão, quer por estas serem paucibacilares. Na maioria destes casos o diagnóstico de certeza é baseado no exame histopatológico. Assim, os novos métodos poderão ser de grande ajuda ao diagnóstico. Por ser o derrame pleural a manifestação extrapulmonar mais comum da tuberculose, é, conseqüentemente, um dos mais estudados.

O Gama Interferon (IFN) é uma linfocina que auxilia os macrófagos na eliminação intracelular da micobactéria. Sua dosagem no líquido pleural tem mostrado-se útil no diagnóstico diferencial da tuberculose desta localização (5, 6, 7, 8, 9, 10).

O **objetivo** deste trabalho é avaliar a utilidade da dosagem do IFN, no líquido pleural, em uma população com alta prevalência de tuberculose.

Material e Método

Foram avaliados 45 pacientes de dois Hospitais Universitários do Estado do Rio de Janeiro, sendo a maioria do sexo masculino (32 homens e 13 mulheres), com média de idade de 43,2, desvio padrão (DP) 18,0, variando de 16 a 83 anos. Esta média foi significativamente menor nos pacientes com tuberculose do que no grupo dos com as demais doenças (37,18 DP 14,07 versus 62,00 DP 15,49, respectivamente).

A amostra foi dividida, quanto ao diagnóstico etiológico do derrame pleural, em 34 casos de tuberculose e 11 no grupo controle, composto de casos assim distribuídos: 5 com metástase pleural, 5 com transudado e 1 secundário ao lúpus eritematoso sistêmico (LES).

A dosagem do gama IFN foi realizada por técnica de ELISA, utilizando-se um kit para dosagem de gama IFN humano, da Genzyme, adquirido através da GIBCO. A técnica é simples e o tempo para sua execução é de um dia de trabalho (devido a necessidade de diversas incubações). Pode ser realizado em até 4 dias diferentes, pois vem com 4 placas para 24 dosagens cada, num total de 96 dosagens por kit. A cada dia de dosagem devem ser feitos dosagens de controle, o que diminui o número total de amostras testadas. Valores maiores do que 5.000 pg/ml devem ser repetidos com amostras diluídas, eventualmente por mais de uma vez, para determinação do real valor. O preço médio, de custo, de cada dosagem é de aproximadamente R\$ 15,00 (quinze reais), sem a repetição com amostra diluída. Inicialmente, com a primeira placa, realizamos o teste com amostras em duplicata, mas devido a reprodutividade dos resultados obtidos, optamos pela dosagem simples de cada amostra e um melhor aproveitamento do material.

A adenosina desaminase (ADA) foi dosada pela técnica de Giusti, com pequenas modificações (11, 12). Sabemos que a adenosina desaminase pertence a um grupo de enzimas que agem no metabolismo das purinas, atuando como catalisadora da reação que transforma adenosina em inosina e libera amônia. Esta pode ser facilmente medida por reação colorimétrica e representa a atividade enzimática. Sua dosagem, a preço de custo para um laboratório de pesquisa, é de aproximadamente R\$ 3,00 (três reais)

A pesquisa do antígeno carcino-embrionário (CEA), foi realizado pela rotina dos laboratórios dos hospitais de origem dos pacientes, com kit próprio disponível, também por técnica de ELISA.

Resultados

Considerando-se como valor de descricine para o gama IFN o valor de 500 pg/ml, o que representa o 95º percentil inferior no grupo da tuberculose, nesta amostra, observamos, uma sensibilidade = 94,1%, especificidade = 90,9%, valor preditivo positivo = 96,7% e negativo = 83,3%.

A média no grupo da tuberculose foi de 4.648,82 com um grande DP de 7.435,86, e variando de 100 a 40.364, enquanto nos demais pacientes obtivemos média de 247,64 com DP 381,73 variando de 67 a 1.318 (este maior valor foi obtido do paciente com LES). Estes valores podem ser melhor avaliados, individualmente, no gráfico I, onde identificamos dois resultados falsos negativos e um falso positivo.

Não houve correlação entre os valores do gama INF e da ADA nesta amostra ($r = 0,103$), como pode ser avaliado no gráfico II.

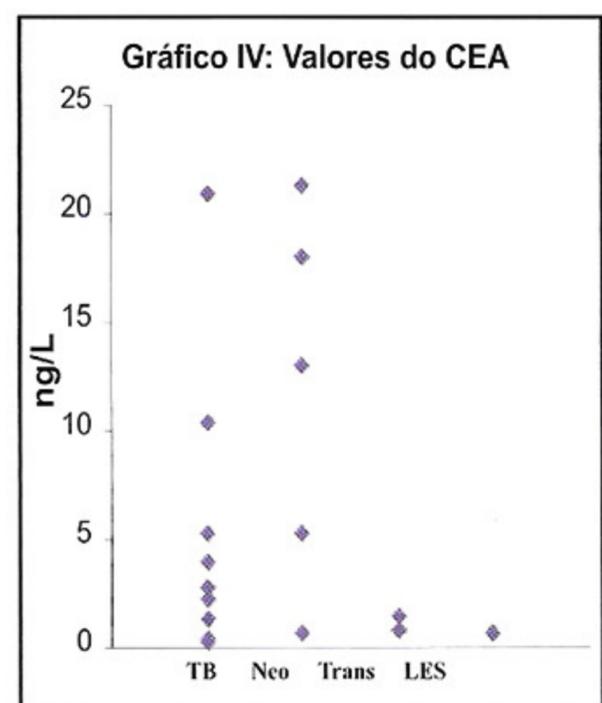
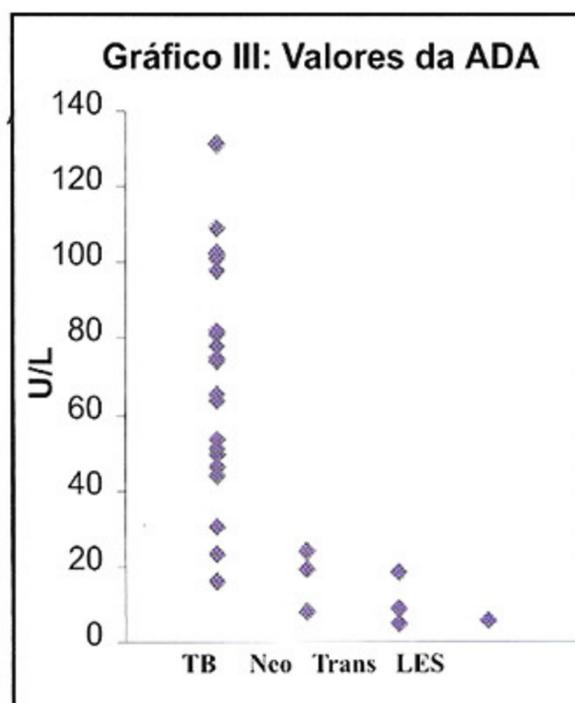
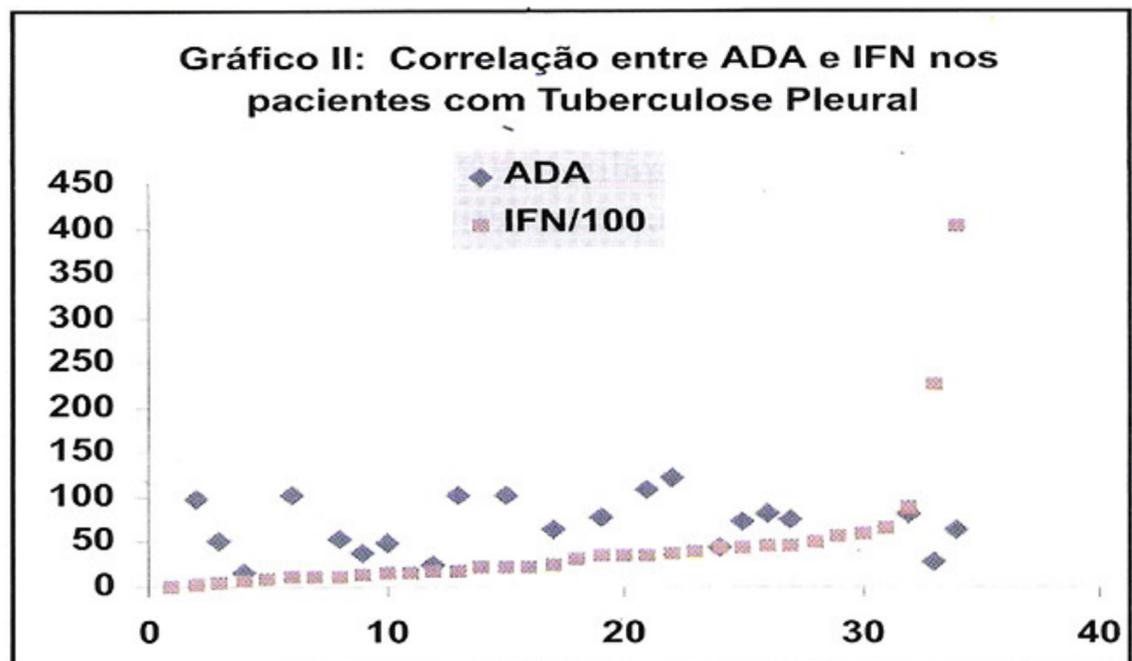
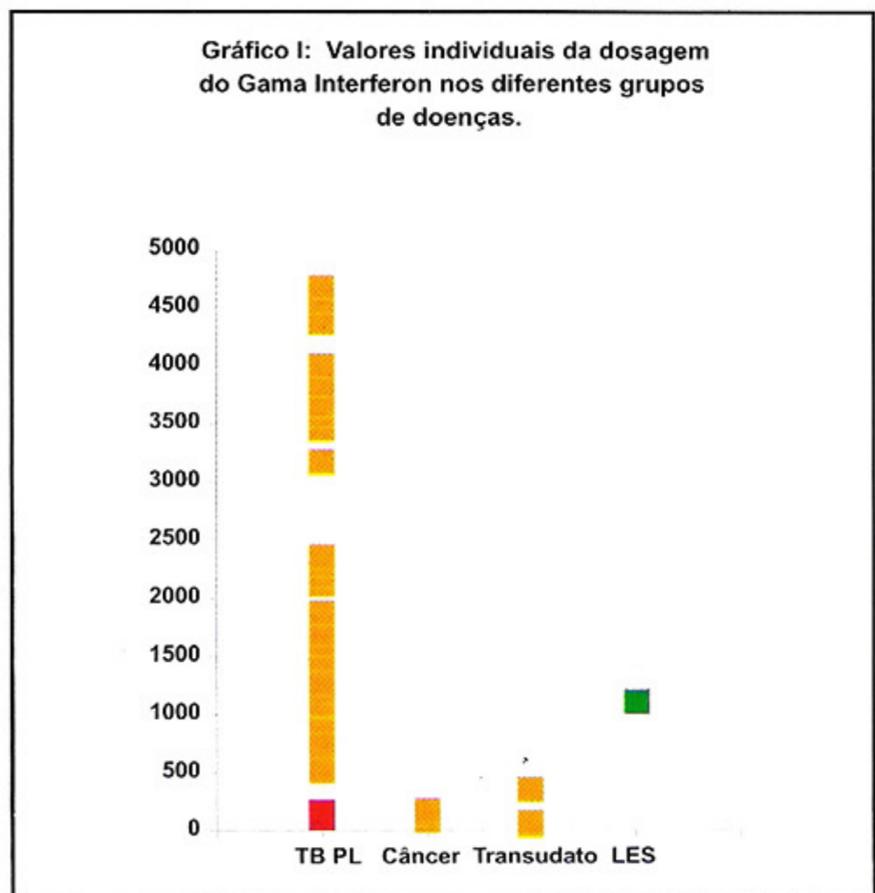
A dosagem da ADA, disponível em alguns pacientes, pode ser avaliada para comparação. Em 21 casos de tuberculose, a média foi de 69,4 U/L, enquanto em 7 pacientes com outros diagnósticos foi de 12,7 U/L. Os valores podem ser vistos no gráfico III.

Utilizando-se, o valor de descricine de 40 U/L, o valor mais citado na literatura, a sensibilidade foi de 81,7%, enquanto a especificidade foi igual a 100%.

O CEA estava elevado, acima de 10 ng/L, em 3 de 5 pacientes com neoplasia, mas também em 2 de 16 pacientes sem a doença, como pode ser observado no gráfico IV. Isto nos permite calcular uma sensibilidade de apenas 60% e a ocorrência de 12,5% de falsos positivos.

Discussão

O Gama Interferon é uma linfocina, produzida e liberada principalmente pelos linfócitos CD₄, que auxilia os macrófagos, principal célula efetora da imunidade contra o *Mycobacterium tuberculosis* 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. A sensibilidade, relatada na literatura, variou de 94 a 100%, enquanto a especificidade ficou entre 91,8% a 100% (5, 7, 10).

Como este trabalho tinha o objetivo de avaliar o desempenho inicial deste método, optamos por incluir um número maior de pacientes com tuberculose (3/4 da amostra), frequência de casos um pouco maior do que o observado na nossa população (20) e, não foi possível observar pacientes com outras doenças infecciosas, não tuberculosa. O resultado encontrado por nós, sensibilidade = 94,1%, especificidade = 90,9%, valor preditivo positivo = 96,7% e negativo = 83,3%, foi semelhante ao observado por outros autores (5, 6, 7).

Dosado por técnica ELISA ou RIA, de modo simples e custo relativamente baixo. O kit que utilizamos, com capacidade para 96 dosagens incluindo os controles, se mostrou bastante simples de usar, com resultados reprodutíveis, dispensando a dosagem em duplicata. Valores acima de 5.000 pg/ml necessitam ser repetidos com diluição da amostra para determinação do real valor, o que aumenta o custo do exame. Na prática, o encontro de valores acima deste pode dispensar este procedimento por já estar bastante acima do ponto de descimine.

Com relação aos demais marcadores de tuberculose ou neoplasias também existem dúvidas, apesar do seu uso mais amíúde. Tem-se observado que o CEA, o marcador tumoral mais estudado e utilizado, pode estar elevado em pacientes que não apresentam neoplasia. Em nossa pequena amostra, a sensibilidade foi de apenas 60%, no que está de acordo com a literatura (13, 14), que refere uma grande variabilidade, e observamos resultados falsos positivos em 12,5%, todos em casos de tuberculose. Apesar de já ter sido relatado resultados falso positivos até em transudatos, a causa mais importante destes tem sido a infecção, especialmente nos empiemas. A causa deste aumento é desconhecida e não parece haver correlação com os parâmetros bioquímicos ou número de leucócitos (14). A elevação do CEA tem sido descrita como infreqüente na tuberculose, em torno de 0 a 2% dos casos, mas já foi observada em até 33% dos derrames secundários a esta doença (13,14). Em exames para o diagnóstico de neoplasias, espera-se uma alta especificidade, pois um resultado falso positivo pode implicar em sérias conseqüências para o paciente em questão.

A ADA, um dos principais marcadores da tuberculose em serosas, já foi pesquisada por diversos autores, e a maioria dos trabalhos comprovam sua utilidade e recomendam seu uso na rotina de investigação do derrame pleural. Mostrando uma sensibilidade que varia de 92 a 100% e especificidade de 85 a 97%, dependendo do limiar de descimine e da amostra de pacientes estudada. Na população por nós avaliada não houve resultado falso positivo, especificidade de 100%, mas foram poucos os casos estudados e não incluímos pacientes com doenças que podem cursar com elevação da ADA, a saber: empiema, alguns linfomas e a artrite reumatóide. Obtivemos 15% de resultados falso negativos, o que nos permite calcular uma sensibilidade de 85%, um pouco abaixo do esperado (12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23).

Atualmente, atenção maior tem sido dado as isoenzimas da ADA como auxílio complementar ao diagnóstico diferencial dos derrames pleurais (24). A ADA₁ está presente em todos os tecidos, sendo a única observada nos eritroblastos e no timo, sendo essencial a uma resposta imune eficiente; por outro lado, a ADA₂ é encontrada nos macrófagos que a liberam quando estimulados pela presença de microorganismos no seu interior (23, 25), sendo a responsável por quase a totalidade da ADA dosada nos materiais testados quando a etiologia é inflamatória (pesquisa em andamento).

A concentração da ADA é mais elevada no material testado, líquido pleural, 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 (24, 26, 27). 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; e a especificidade não é ideal, pois outras doenças que alteram o sistema imune podem ter elevação da atividade sérica da ADA (16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23).

O IFN já foi pesquisado, a exemplo da ADA, em outros líquidos de serosas com os mesmos bons resultados (8,9), e também apresenta maior concentração no local da inflamação. Sua comparação com a ADA é importante, pois parece que ambos estão aumentados nos líquidos orgânicos em função da resposta imunológica ao processo infeccioso, possivelmente atuando em sinergismo. Estudos mostram, no entanto, não haver correlação entre o

número e o tipo de linfócitos presentes no líquido pleural e a dosagem da ADA (8, 26, 28) ou do INF (7) e ainda existe controvérsias sobre a correlação entre os valores da ADA e do IFN em um mesmo paciente (27, 28). Em nossa amostra não observamos correlação entre os valores destes e pode-se supor que estas enzimas atuam em momentos diferentes da resposta imunológica.

Curioso ainda é o fato de que, apesar de estarem ligadas a resposta imunológica celular, a mais comprometida nos pacientes com imunodeficiência adquirida secundária ao vírus da imunodeficiência humana (HIV), ambas as dosagens parecem ser úteis no diagnóstico da tuberculose em pacientes com HIV+ / AIDS. O IFN mostrou-se útil, mesmo em pacientes imunocomprometidos (8, 9). A presença do HIV no líquido parece não alterar o valor da ADA (29), que pode estar elevada no soro de alguns pacientes com HIV+ ou outras doenças hematológicas (23, 30, 31, 32, 33). A dosagem da ADA em casos comprovados de tuberculose meníngea e pleural em pacientes HIV positivos apresentou valores elevados, apesar do número significativo de depleção de células T encontrada em alguns destes pacientes, o que confirma inicialmente a possibilidade de se utilizar este método também nos pacientes com AIDS (34, 35). Maiores estudos são necessários, especialmente neste grupo de pacientes.

Outro marcador que tem merecido destaque é o Fator de Necrose Tumoral (TNF), também uma citocina liberada pelas células mononucleares, que 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 (6). Assim como a ADA e INF, sua concentração no líquido pleural secundário a tuberculose é de 5 a 30 vezes maior do que no soro do mesmo paciente (35). Seu aumento também não é específico da tuberculose, mas a associação destes métodos indiretos, decorrentes da resposta imunológica do hospedeiro, mas agindo em diferentes etapas do processo, podem se complementar no auxílio do diagnóstico e, possivelmente, até mesmo no melhor entendimento da interação entre bacilo e hospedeiro.

Vale comentar que recente estudo preliminar, com 5 pacientes, evidenciou ser o gama IFN, via inalatória, útil e seguro como auxiliar no tratamento de pacientes com tuberculose resistente ao tratamento, com negativação mais rápida do BAAR, tempo necessário para o crescimento do bacilo maior, as-

sociada a melhora clínica e radiológica após 2 meses de observação (29).

Nas últimas décadas, vários autores têm-se dedicado à busca e ao aperfeiçoamento de métodos alternativos para o diagnóstico da tuberculose. O teste ideal deve possuir as seguintes características: alta sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo; resultado rápido; técnica simples e baixo custo; resultado idêntico na mesma amostra em testes diferentes e, principalmente, em diferentes laboratórios. Nenhum dos métodos existentes até o momento pode ser considerado ideal, pois não apresentam eficiência diagnóstica tal que permita seu emprego de modo isolado. Contudo, a associação de métodos com características diferentes, com os métodos tradicionais e, associada a história clínica, pode ser de grande auxílio para um diagnóstico mais rápido e seguro. A média de idade dos pacientes com tuberculose foi menor que no grupo controle, composto em sua maioria por pacientes com neoplasia e transudatos secundários, principalmente a insuficiência cardíaca, caracteristicamente enfermidades que acometem indivíduos com idade mais avançada. Em contraste, a tuberculose predomina nos adultos jovens, especialmente em regiões com elevada prevalência da doença.

A dosagem da ADA, apesar de indireta, cada vez mais confirma sua utilidade como método auxiliar simples e rápido no diagnóstico da tuberculose pleural, principalmente nas regiões de alta incidência da doença. Contudo, outros métodos, semelhantes ou não, devem ser avaliados na tentativa de melhorar o desempenho diagnóstico. O IFN pode ter uma melhor performance do que a ADA, no entanto seu custo é mais elevado. Há necessidade de continuarmos este estudo, com número maior de casos antes de recomendar o seu uso na rotina de investigação do derrame pleural, associado ou em substituição a ADA, especialmente nos pacientes imunocomprometidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-Styblo K. Aspecto sobre la tuberculosis y la infeccion VIH a nivel mundial. Bol Union Tuberc y Enfermed Respir 1990; 65 (1): 30-35.
- 2-Controle da Tuberculose: Uma proposta de integração ensino-serviço. 2ª ed. Ministério da Saúde, Secretaria Nacional de Programa Especiais de Saúde, Fundação Universitária José Bonifácio e Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1989.

- 3-Daniel TM. Rapid diagnosis of tuberculosis: laboratory techniques applicable in developing countries. *Reviews Infect Dis* 1989; II (52): S 471-477.
- 4-L'Herminez RH. Urgent need for a new approach to the diagnosis of tuberculosis in developing countries in the decade of AIDS. *Tropical and Geographical Medicine* 1993; 45 (4): 145-149.
- 5-Aoki Y, et al. A comparison study of IFN-gama, ADA and CA125 as the diagnostic parameters in tuberculous pleuritis. *Resp Med* 1994; 88: 130-143.
- 6-Barnes PF, et al. Local production of tumor necrosis factor and IFN-gama in tuberculous pleuritis. *J Immunol* 1990; 145 (1): 149-151.
- 7-Ribera E, et al. High level of Interferon Gamma in tuberculous pleural effusion. *Chest* 1988; 93 (2): 308-311.
- 8-Ribera E, et al. Diagnostic value of ascites gamma interferon levels in tuberculous peritonitis. Comparison with adenosine deaminase activity. *Tubercle* 1991; 72: 193-197.
- 9-Sathar MA, et al. Ascitic fluid Gamma Interferon concentrations and Adenosine Deaminase activity in tuberculous peritonitis. *GUT* 1995; 36: 419-421.
- 10-Valdés L, et al. Diagnosis of tuberculous pleurisy using the biologic parameters Adenosine Deaminase, Lysozyme, and Interferon Gamma. *Chest* 1993; 103: 458-465.
- 11-Giusti G. Adenosine deaminase. In: *Methods of Enzymatic Analysis*. New York: H. U. Bergmeyer, Academic Press, 1974. Yokoyama MM, Tsuboi I. Adenosine deaminase isoenzymes and HIV/HTLV-1 infections. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80 (9): 698.
- 12-Neves DD. O valor da adenosina desaminase no diagnóstico diferencial dos derrames pleurais. *Pulmão-RJ* 1994; IV (2): 17-24.
- 13-Mckenna JM, Chadrsekhar AJ, Henkin RE. Diagnostic value of carcinoembryonic antigen in exudative pleural effusions. *Chest* 1980; 78: 587-590.
- 14-Pachon EG, et al. Elevated level of carcinoembryonic antigen in nonmalignant pleural effusions. *Chest* 1997; 111: 643-647.
- 15-Banales JL, et al. Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusions. A report of 218 patients and review of the literature. *Chest* 1991; 99 (2): 355-357.
- 16-Hankiewicz J, Koterwa A. Adenosine deaminase in effusions. *Mat Med Pol* 1978; 3 (36): 180-183.
- 17-Maritz FJ, Malan C, Roux I. Adenosine deaminase estimations in the differentiation of pleural effusions. *S Afr Med J* 1982; 62: 556-558.
- 18-Ocanã I, et al. Adenosine deaminase in pleural fluids. *Chest* 1983; 84 (1): 51-53.
- 19-Piras MA, et al. Adenosine deaminase activity in pleural effusions: an aid to differential diagnosis. *Brith Med J* 1978; 2 (6154): 1751-1752.
- 20-Strankinga WFM et al. Adenosine deaminase activity in tuberculous pleural effusions. A diagnostic test. *Tubercle* 1987; 68:137-140.
- 21-Vidal R et al. Adenosina deaminase (ADA) como marcador de pleuritis tuberculosa. *Bol Union Intern Contra Tuberc* 1986; 61 (3):32.
- 22-Vidal RP, Broquetas J. High adenosine deaminase activity level in pleural effusion. *Chest* 1986, 90: 625.
- 23-Yokoyama MM, Tsuboi I. Adenosine deaminase isoenzymes and HIV/HTLV-1 infections. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80 (9): 698.
- 24-Jacobus PJ, et al. Significance of adenosina deaminase activity and its isoenzymes in tuberculous effusions. *Chest* 1994; 94: 33-37.
- 25-Gakis C, et al. Serum and pleural adenosine deaminase activity. Correct interpretation of the findings. *Chest* 1991; 99 (6): 1555.
- 26-Baganha MF, et al. Serum and pleural adenosine deaminase. Correlation with lymphocytic population. *Chest* 1990; 97 (3): 605-610.
- 27-Pettersson T, Ojala K, Weber TM. Adenosine deaminase in the diagnosis of pleural effusions. *Acta Med Scand* 1984; 215: 299-304.
- 28-Ocanã I, et al. Adenosine deaminase activity in the diagnosis of lymphocytic pleural effusions of tuberculous, neoplastic and lymphomatous origin. *Tubercle* 1986; 67: 141-145.
- 29-Condors R, Rom WN, Schluger NW. Treatment of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis with interferon-gama via aerosol. *Lancet* 1997; 349: 1513-1515.
- 30-Christensen LD, et al. Decreased B lymphocyte ecto-5' nucleotidase and increased adenosine deaminase in mononuclear cells from patients infected with human immunodeficiency virus. *APMIS* 1988; 96 (10): 882-888.
- 31-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.
- 32-Delia S, et al. Adenosine deaminase activity and acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Clin Chem* 1987; 33 (9): 1675.
- 33-Murray JL, et al. Elevated adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase activity in peripheral blood null lymphocytes from patients with acquired immune deficiency syndrome. *Blood* 1985; 65 (6):1318-1323.
- 34-Ena J, et al. Adenosina deaminase activity in cerebrospinal fluid: A useful test for meningeal tuberculosis, even in patients with AIDS. *J Infect Dis* 1988; 158 (4): 896.
- 35-Richter C, Perenboom R, et al. Diagnosis of tuberculosis in patients with pleural effusion in an area of HIV infection and limited diagnostic facilities. *Trop & Geograf Med* 1994; 46 (5): 293-297.