

# Dosagem da atividade da adenosina desaminase (ADA)

## *Adenosine deaminase activity (ADA) measurement*

Denise Duprat Neves<sup>1</sup>, Cyro Teixeira da Silva Junior<sup>2</sup>,  
Paulo César Amorim Preza<sup>3</sup>, Patrizio Morisson<sup>4</sup>

### RESUMO

A atividade da adenosina desaminase (ADA) tem se mostrado útil para o diagnóstico da principal causa de derrame em nosso país, a tuberculose. Contudo, sua dosagem ainda não vem sendo utilizada de rotina. Acreditamos que a não existência de um kit comercial validado seja um dos principais fatores. Neste artigo descrevemos os cuidados com o líquido, a técnica de dosagem e o rendimento desta no diagnóstico da tuberculose de diversas localizações.

**Descritores:** adenosina desaminase, técnicas de diagnóstico e procedimentos, sensibilidade e especificidade.

### ABSTRACT

The adenosine deaminase activity (ADA) is useful in the diagnosis of the principal cause of pleural effusion in our country, the tuberculosis. Nevertheless, its measurement has not being used in the routine investigation. We believe that the principal reason is that no commercial kit is available. We describe how to collect the fluid, the steps for ADA measurement and its usefulness in the diagnosis of tuberculosis in diverse localization.

**Keywords:** adenosine deaminase, diagnostic techniques and procedures, sensitivity and specificity.

## Introdução

A tuberculose pleural é a causa mais freqüente de derrame pleural exsudativo em adultos no nosso país<sup>1</sup>. Seu diagnóstico definitivo, pela identificação do bacilo (por baciloscopia, cultura do líquido ou do fragmento pleural), nem sempre é possível e o encontro do granuloma (especialmente se exibir necrose caseosa) em fragmento de biópsia de pleura parietal, sugere a causa.

As limitações desses métodos diagnósticos vêm motivando a pesquisa de novas técnicas com maior rentabilidade, mais ágeis e precisas, decorrente de procedimentos menos invasivos. O ideal seria a identificação do bacilo como nos métodos baseados na biologia molecular (identificação de fragmentos do bacilo), mas métodos indiretos que detectam alterações imuno-bioquímicas também têm sido

1. Professora Adjunta de Pneumologia na Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO). Doutora em Medicina.
2. Professor Adjunto do Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal Fluminense (UFF), Disciplina de Pneumologia. Doutor em Medicina.
3. Professor da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO) e Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ), Disciplina de Bioquímica.
4. Aluno da Escola de Medicina e Cirurgia e bolsista de Iniciação Científica da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO).

Trabalho realizado pelo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Médicas da Universidade Federal Fluminense, Cidade de Niterói, Estado do Rio de Janeiro e pelas Disciplinas de Pneumologia e de Bioquímica da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

**Endereço para correspondência:** Cyro Teixeira da Silva Junior. Rua da Conceição, 13/210 Centro 24020-080 Niterói – Rio de Janeiro. E-mail: ctsilvajunior@predialnet.com.br

Artigo recebido para publicação no dia 29/07/2004 e aceito no dia 17/09/2004, após revisão.

utilizados, com aumento da chance de acerto em um diagnóstico de probabilidade.

Até o momento a dosagem da ADA tem se destacado como teste útil, de baixo custo operacional e com maior suporte na literatura para auxílio no diagnóstico da tuberculose pleural<sup>2-4</sup>.

O objetivo deste estudo é descrever o modo adequado de coleta e processamento do material para a dosagem da ADA e discutir sua utilidade no diagnóstico da tuberculose.

## Metodologia

A dosagem da ADA, para diagnóstico da causa de derrame, só deve ser realizada no líquido pleural, pois já se comprovou seu melhor rendimento em relação ao sangue periférico<sup>5</sup>, provavelmente em razão da compartimentalização das células inflamatórias. De modo geral, a enzima tem estado mais elevada no líquido orgânico testado (pleural, peritoneal, pericárdico e sinovial) do que no sangue, indicando que existe síntese local da enzima<sup>6-12</sup>. Além disto, diversas doenças, além da tuberculose, podem elevar a atividade da ADA no sangue periférico, levando a resultados falsos positivos. Não foi observada correlação entre a dosagem sérica e a do líquido pleural<sup>8,13</sup>.

A obtenção do material é realizada por meio de toracocentese de rotina. É importante conhecermos como tratar o material obtido para uma dosagem correta.

A centrifugação do líquido, a 1.000 x g por pelo menos 10 minutos logo após a coleta, deve ser realizada no intuito de separar o conteúdo celular e não celular do líquido pleural. A lise, que ocorre com o congelamento do material, pode liberar a ADA contida nas células, alterando o valor da dosagem da enzima. No entanto, já foi descrito que a hemólise, possível de ocorrer decorrente a acidentes de punção, não parece alterar a dosagem se esta for realizada em até 72 horas após a coleta<sup>14</sup>.

O líquido deve ser estocado em diferentes frascos, sem anticoagulante. É descrito inibição pelo fenol contido nos preparados comerciais de heparina e com o ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA) pode haver interferência pela presença de compostos de amônia<sup>15</sup>.

Realizamos uma experiência em que as amostras eram colhidas, inicialmente, em 4 tubos: (1) sem anticoagulante, (2) com oxalato de sódio, (3) com ácido etilendiaminotetracético (EDTA) e (4) com heparina. Não foram observadas diferenças significativas entre a atividade da enzima nos primeiros 35 testes realizados, de diferentes pacientes, pelo método colorimétrico empregado. Caso seja conveniente guardar o líquido com uso de anticoagulante deve-se dar preferência ao oxalato de sódio, de baixo custo financeiro e sem referência a possíveis interferências na dosagem.

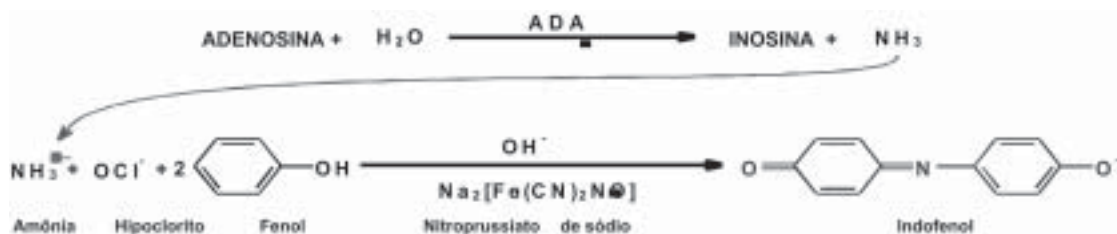
Sabemos, por experiências anteriores, que líquidos convenientemente estocados mantêm a atividade da ADA por um período de até 6 meses. A ADA no soro é estável por pelo menos 24 horas a 25°C, temperatura ambiente; por 7 dias a 4°C, em geladeira, e por pelo menos 3 meses a 20°C negativos, em freezer<sup>15-18</sup>.

A rotina de se estocar o material em vários tubos se justifica, pois, com o descongelamento do material há perda de atividade da ADA, o que torna o líquido sem utilidade para futuras dosagens. O transporte até o laboratório, onde são realizadas as dosagens, deve ser feito em recipientes padronizados e que garantam uma baixa temperatura durante o trajeto.

A dosagem de atividade da ADA é geralmente realizada pela técnica descrita por Giusti<sup>15</sup>. Esta é a técnica utilizada na maioria dos trabalhos clínicos da literatura. Além disto, trata-se de um método rápido (o resultado pode ser fornecido em 2 horas), utilizando reagentes de baixo custo (menos de US\$ 1,00 para cada dosagem), sem necessidade de aparelhagem especial (sua realização é possível em qualquer laboratório de médio porte) e utiliza pequena quantidade de amostra (0,05mL). A reação colorida, que revela a quantidade de amônia liberada pela ação da enzima, é feita segundo a reação de Chaney e Marbach que produz uma cor azul mais estável que as reações de Nessler e a de Berthelot, utilizadas em outras técnicas<sup>19</sup>.

Como não existe um kit comercial validado para sua dosagem, esta deve ser realizada de modo artesanal. Este fato pode contribuir para dificultar a realização mais amíuade da dosagem pelos diversos laboratórios de extensão.

**Figura 1** – Esquema da reação bioquímica na dosagem da ADA.



Em resumo, esta técnica baseia-se na dosagem da amônia liberada pela transformação da adenosina em inosina, catalisada pela ADA. A amônia forma, na presença de fenol, em solução alcalina, um derivado indofenol com intensa cor azul. Esta reação é catalisada pelo nitroprussiato de sódio e pode ser quantificada por espectrofotometria, como no esquema mostrado na figura 1.

Sugere-se que as dosagens enzimáticas, de cada amostra, sejam feitas em duplicata, visando controlar possíveis erros técnicos e o resultado expresso pela média aritmética. Nos casos em que os valores sejam discordantes, diferença superior a 10%, a dosagem deve ser repetida. Já foi descrito que a diferença entre dosagens, num mesmo dia, é inferior a 8%<sup>8</sup> e de 14%, em média, a diferença entre testes com 6 semanas de intervalo<sup>20</sup>.

Para cada amostra deve ser feito um branco, em que não é adicionado o substrato. Brancos para controle do substrato e reagentes também são realizados a cada dia de dosagem, como descrito a seguir.

### **Técnica de dosagem da ADA**

Todos os vidros utilizados para estoque dos reagentes devem ser esterilizados e de cor âmbar. O material de laboratório usado deve ser lavado com água bidestilada (livre de amônia), sendo esta também utilizada no preparo dos reagentes. Os profissionais que trabalharem na dosagem da ADA e na manipulação do material utilizado para a realização da mesma não devem ser fumantes em função da interferência que pode ser causada pelo resíduo de amônia que fica depositado nas mãos dos fumantes.

**1ª fase – Reação enzimática:** no tubo de dosagem (“D”) é colocado 0,5mL de solução de adenosina tamponada (21mM de adenosina em 50mM de tampão de fosfato de sódio com pH final de 6,5) e, após aquecimento a 37°C por 5 minutos, são adicionados para o início da reação 50 microlitros da amostra que contém a enzima (ou seja, 0,05mL de líquido pleural) à temperatura ambiente. Esta solução de adenosina, que serve como substrato à reação, contém 15mL de solução tampão + 140mg de adenosina (SIGMA número A9251 em <http://www.sigma-aldrich.com>) com pH ajustado para 6,5 e diluído em 25mL de solução tampão fosfato. Os tubos são então arrolhados e colocados em incubação, em banho-maria, a 37°C por 45 minutos, com agitação a cada 15 minutos.

Além dos tubos de dosagem, três outros são feitos para servir de brancos para a leitura final. O tubo “O” é composto por 0,5mL de tampão de fosfato de sódio, com as características descritas, e 0,05mL de água

bidestilada. O tubo “S”, controle da coloração do substrato, recebe 0,05mL de água bidestilada no lugar da amostra. O tubo “B”, branco da amostra, além desta recebe 0,5mL do tampão de fosfato de sódio 50mM, pH de 6,5, em vez da adenosina tamponada, sendo feito um para cada amostra. Os conteúdos do tubo “S” e do tubo “O” são feitos a cada dia de determinação de várias amostras. O conteúdo destes tubos estão explicitados no quadro abaixo.

**Quadro 1 - Conteúdo do tubo de dosagem e dos brancos para mensuração da ADA.**

	TUBO O	TUBO S	TUBO B	TUBO D
Tampão	0,5		0,5	
Substrato		0,5		0,5
Água destilada	0,05	0,05		
Amostra			0,05	0,05

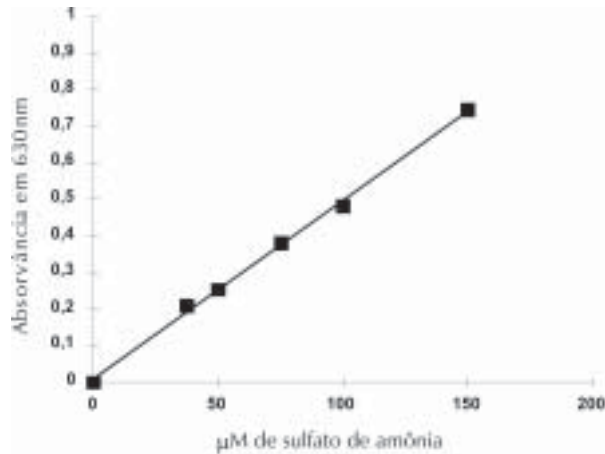
Valores em ml.

**2ª fase – Reação colorida / revelação:** a reação é parada com a adição de 1,5ml de solução de fenol / nitroprussiato (106mM de fenol e 0,17mM de nitroprussiato de sódio), com imediata mistura de solução alcalina de hipoclorito de sódio (11mM de hipoclorito de sódio em 125mM de hidróxido de sódio) e vigorosa agitação dos tubos. Estes são então, mais uma vez, arrolhados e incubados a 37°C por 30 minutos, para o desenvolvimento da reação colorida.

**3ª fase – Dosagem da atividade:** a absorvância é medida em 630nm, usando-se cubetas com caminho óptico de 1cm, no espectrofotômetro. O tubo “O” é utilizado como branco de leitura. Depois são descontados os valores encontrados nos tubos “S” e respectivo “B” da absorvância do tubo de dosagem (“D”), e o resultado é comparado com o de uma curva padrão (figura 2) para a determinação da quantidade de NH<sub>3</sub> produzida nas condições de dosagem. Esta curva é construída usando-se 0,5mL de soluções obtidas por diluições sucessivas de uma solução 150mM de sulfato de amônia, e deve ser refeita sempre que forem usadas novas soluções de fenol / nitroprussiato e hipoclorito de sódio. Desta forma, pode-se calcular a quantidade de ADA existente em cada amostra de líquido.

Os valores são expressos em U/L, que é definida como sendo a quantidade em mmol de NH<sub>3</sub> produzidos, a 37°C, por minuto, pela enzima contida em 1 litro da amostra.

Alguns cuidados são importantes durante a dosagem da ADA: 1) reagentes, amostra e padrões devem estar na temperatura ambiente, isto é particularmente importante quando utilizamos incubações curtas, com uma hora ou menos, podendo influenciar a sensibilidade do teste; 2) a precisão na

**Figura 2** – Curva padrão para cálculo da dosagem da ADA.

pipetagem é particularmente importante quando se trabalha com pequenos volumes, pipeta não ajustada, com possibilidade de perda de material (erro de até 20%), bolhas de ar na pipeta devido à aspiração rápida (perda de até 10%), líquido ao redor da pipeta (ganho de 3%), esvaziamento rápido da pipeta com não saída de todo o material (perda de até 5%); 3) mistura adequada dos reagentes e agitação durante a incubação e 4) calibração cuidadosa do equipamento após registro de cada dosagem.

## Discussão

Adenosina Aminohidrolase (EC 3.5.4.4) é o nome recomendado pela União Internacional de Química Pura e Aplicada e pela União Internacional de Bioquímica, para designar a Nucleosídeo Desaminase ou Adenosina Desaminase, abreviada por ADA. Esta enzima pertence a um grupo de enzimas que atuam no metabolismo das purinas, e já foi descrita nos microrganismos, nos vegetais, nos invertebrados, nos anfíbios, nas aves e nos mamíferos<sup>21</sup>. Está presente em todos os tecidos humanos, principalmente livre no citoplasma das células<sup>22</sup>, mas também é encontrada na membrana celular<sup>23</sup>. Sua distribuição pelos diferentes tecidos não é homogênea e quantidades maiores da enzima são observadas nos órgãos linfóides<sup>22, 24-26</sup>.

A principal função da ADA é sua ação na proliferação e diferenciação dos linfócitos e na maturação dos monócitos<sup>13,27,28</sup>, mas pode mediar diversos processos biológicos, incluindo vasodilatação coronariana, esteroidogênese e lipólise.

Devido ao fato de a enzima ser liberada por linfócitos, em presença de processo inflamatório, ou pelos macrófagos, com microorganismo no seu interior, é esperado um aumento da sua atividade em

entidades mórbidas infecciosas ou que envolvam resposta imunológica, especialmente das células T<sup>29,30</sup>. Como estas são as principais células envolvidas na resposta imunológica à tuberculose, sua atividade tem sido pesquisada mais amiúde como auxiliar no diagnóstico desta doença, mas também em inúmeras outras enfermidades.

A ADA foi descrita pela primeira vez por Schmidt, em 1928, que a separou da enzima ácido adenílico desaminase<sup>31</sup>. A sua dosagem com finalidade diagnóstica foi proposta em 1970, como marcador sorológico para o câncer de pulmão<sup>32</sup>. Os primeiros trabalhos com relação à utilidade da ADA no diagnóstico da tuberculose datam de 1973, em meningite<sup>33</sup>, e em 1978 em pleura e peritônio<sup>34</sup>. Outros trabalhos surgiram, com maior entusiasmo, a partir de 1990. No final da década de 80, surgem os primeiros trabalhos sobre a pesquisa das isoenzimas em líquido pleural<sup>8,35</sup>, mas ainda existem controvérsias sobre a sua utilização na rotina para o diagnóstico dos derrames<sup>27,36-38</sup>.

O rendimento da dosagem da ADA para o diagnóstico da tuberculose pleural já foi avaliado em mais de 6.000 observações<sup>39,40</sup>, sendo que um terço destes secundário a tuberculose. A prevalência desta foi em média de 36%, variando de 5% a 72%. O valor discriminatório variou de 33U/L a 100U/L e a sensibilidade e especificidade de 62% a 100%, mas, geralmente com ambas acima de 80%.

O valor que melhor discrimina os pacientes com tuberculose pleural das demais etiologias varia nos diferentes estudos, predominando os valores entre 35 a 60U/L<sup>2,8,39,41-46</sup>. Alguns sugerem uma faixa, onde existe dúvida sobre a etiologia<sup>47,48</sup>. O Consenso Brasileiro de Tuberculose<sup>49</sup> reconhece a utilidade da ADA para o diagnóstico de probabilidade da tuberculose pleural, recomendando o valor discriminatório de 40U/L.

A dosagem da ADA já foi realizada em diversos fluidos biológicos. Em líquido pericárdico, a sensibilidade varia de 71% a 100% e a especificidade de 91% a 100%<sup>17,50-54</sup>, com valor discriminatório semelhante ao utilizado no derrame pleural.

O diagnóstico da tuberculose peritoneal geralmente é difícil, especialmente nos pacientes cirróticos e dependente de exame invasivo: a laparoscopia. Quando baseados em resultados de exames não específicos, existe um grande número de diagnósticos incorretos, em torno de 30%<sup>55</sup>. A sensibilidade e especificidade da ADA estão acima dos 90%<sup>53,55-60</sup>, apesar de alguns autores sugerirem uma menor sensibilidade do método nos pacientes

cirróticos, em áreas de baixa prevalência de tuberculose e em pacientes com AIDS<sup>56,61</sup>.

O valor da atividade da enzima no líquido é menor que nos demais líquidos de serosas e sua utilidade bastante controversa. A sensibilidade e especificidade foram maiores que 80%, variando nos diferentes estudos<sup>33,53,62,63</sup>. Cabe salientar que um maior número de doenças que causam meningite podem cursar com elevação da ADA e portanto a especificidade nestes casos é menor, especialmente em pacientes com AIDS<sup>64</sup>.

A ADA já foi investigada no diagnóstico diferencial de derrames articulares<sup>65</sup> e em uma avaliação inicial na tuberculose urinária<sup>66</sup>, apesar da amônia presente na urina dificultar a dosagem.

Empolgados com a utilidade do método para o diagnóstico da tuberculose extrapulmonar, alguns estudos foram realizados no escarro e lavado broncoalveolar. A dosagem da ADA foi maior nos pacientes com tuberculose do que no grupo controle com outras doenças pulmonares, malignas ou infecciosas, inclusive em pacientes com BAAR negativo mas cultura positiva, mas com utilidade prática ainda controversa<sup>67-74</sup>.

Em crianças com tuberculose pulmonar, foi observada uma maior atividade sérica da enzima do que nas com pneumonias bacterianas, por micoplasma ou por vírus<sup>75,76</sup>. Em adultos, soronegativos para o HIV, a ADA<sub>2</sub> mostrou uma sensibilidade para o diagnóstico de TB pulmonar de 54,5% e especificidade de 98%<sup>77</sup>. Existe uma infinidade de doenças que podem cursar com aumento sérico da ADA, diminuindo a especificidade do método para o diagnóstico, mas a dosagem sérica pode ser útil no acompanhamento do tratamento da tuberculose pulmonar<sup>78</sup>, diminuindo com o início do tratamento específico, principalmente pela diminuição da atividade da ADA<sub>2</sub><sup>79</sup> e sem correlação com outros parâmetros da fase aguda<sup>75</sup>.

Concluimos que, apesar de não existir um kit confiável para dosagem, a técnica de dosagem da atividade da ADA e um método de fácil implantação e que dever ser realizado de rotina para investigação de tuberculose, especialmente em áreas de alta prevalência da doença. O rendimento como teste diagnóstico depende da prevalência da tuberculose e de outras possíveis doenças que possam cursar com elevação da ADA em determinado material. Frente a uma ADA baixa podemos, praticamente, excluir a tuberculose como causa do derrame mas a confirmação do diagnóstico vai depender da exclusão de outras causas que cursam com elevação da enzima.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Neves DD, Chibante AMS, Silva Júnior CT. Derrame pleural. In: Sociedade de Pneumologia e Tisiologia do Estado do Rio de Janeiro, editor. Pneumologia - Aspectos práticos e atuais. Rio de Janeiro: Revinter; 2001. p. 185-200.
2. Villegas MV, Labrada LA, Saravia NG. Evaluation of polymerase chain reaction, adenosine deaminase and interferon-g in pleural fluid for the differential diagnosis of pleural tuberculosis. *Chest* 2000;118(5):1355-64.
3. Roth BJ. Searching for tuberculosis in pleural space. *Chest* 1999;116:3-5.
4. Gakis C. The low cost of the adenosine deaminase assay [letter, comment]. *Chest* 1996;110(5):1376-7.
5. Valdes L, San-Jose E, Alvarez D, Sarandeses A, Pose A, Chomon B, Alvarez-Dobano-JM, Salgueiro M, Rodriguez-Suarez SO. Diagnosis of tuberculous pleurisy using the biologic parameters adenosine deaminase, lysozyme, and interferon gamma. *Chest* 1993;103(2):458-65.
6. Hankiewicz J, Koterwa A. Adenosine deaminase in effusions. *Mat Med Pol* 1978;3(36):180-3.
7. Avila JJ, Montalvo C, Istúriz G, Adjounian H. Utilidad de la actividad de adenosina deaminasa en el diagnóstico de derrame pleural por tuberculosis. *Med interna (Caracas)* 1990;6(1/2):44-56.
8. Blanco-Vaca F, Pérez MM, Domínguez CP, Gerique JAG, Gil JR, Mir RC, Sastre FG. Análisis de la adenosina desaminasa y sus subfracciones como parámetro diagnóstico del derrame pleural tuberculoso. *Rev Clin Esp* 1989;184(1):7-11.
9. Ellner JJ. Pleural fluid and peripheral blood lymphocyte function in tuberculosis. *Ann Intern Med* 1978;89(6):932-3.
10. Rohrbach MS, Williams DE. T-lymphocytes and pleural tuberculosis. *Chest* 1986;89(4):473-4.
11. Barbosa T, Arruda S, Chalhoub M, Clarêncio JSA, Barral-Netto M. Subpopulação de linfócitos presentes no líquido pleural e sangue periférico de pacientes com pleurite. *J Pneumol* 1998;24(S1):138.
12. Koehler LH, Benz JE. Serum adenosine deaminase: methodology and clinical applications. *Clin Chem* 1962;8(2):133-40.
13. Burgess LJ, Maritz FJ, Roux I, Taljaard JF. Combined use of pleural adenosine deaminase with lymphocyte/neutrophil ratio. Increased specificity for the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Chest* 1996;109(2):414-9.
14. Garrido RG, Braga CACA, Neves DD, Preza PCA. Study of the erythrocyte adenosine deaminase isoform (ADA1). In: XXVII Reunião Anual da Sociedade



- Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular; 1998; Caxambu - Rio de Janeiro; 1998.
15. Giusti G. Adenosine deaminase. In: Bergmeyer HU, editor. *Methods of enzymatic analysis*. New York: Academic Press; 1974. p.1093-9.
  16. Ungerer JPJ, Oosthuizen HM, Bissbort SH, Vermaak WJH. Serum adenosine deaminase: isoenzymes and diagnosis application. *Clin Chem* 1992;38(7):1322-6.
  17. Burgess LJ, Reuter H, Carstens ME, Taljaard JF, Doubell AF. The use of adenosine deaminase and interferon-gamma as diagnostic tools for tuberculous pericarditis. *Chest* 2002;122:900-905.
  18. Braga CACA, Garrido RG, Neves DD, Preza PCA. Adenosine deaminase stability in pleural effusion for tuberculosis. In: XXVII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular; 1998; Caxambu - Rio de Janeiro; 1998.
  19. Chaney AL, Marbach EP. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin Chem* 1962;8(2):130-2.
  20. Lee YCG, Rogers J, Rodriguez RM, Miller KD, Light RW. Adenosine deaminase levels in nontuberculous lymphocytic pleural effusions. *Chest* 2001;120(2):356-61.
  21. Smith EL. *Principles of biochemistry general aspects*. 7th ed. New York: Mac Graw-Hill Bookpter; 1983.
  22. Van der Weyden MB, Kelley W. Human adenosine deaminase distribution and properties. *J Biol Chem* 1976;251(18):5448-56.
  23. Franco R, Valenzuela A, Lluís C, Blanco J. Enzymatic and extraenzymatic role of ecto-adenosine deaminase in lymphocytes. *Immunol Rev* 1998;161:27-42.
  24. Abbade EH, Gaillard MS, Lutzky LD, Mortarini M, Giacosa A, Rocca MR. Valor diagnóstico de la Adenosina Deaminasa (ADA) en los líquidos pleurales. *Respiracion* 1986;1(1):15-8.
  25. Chechik BE, Schrader WP, Perets A, Fernandes B. Immunohistochemical localization of adenosine deaminase in human benign extrathymic lymphoid tissues and B-cell lymphomas. *Cancer* 1984;53:70-8.
  26. Conway EJ, Cooke R. The deaminases of adenosine and Adenlic Acid in blood and tissues. *Biochem J* 1939;33(1):47-92.
  27. Carstens ME, Burgess LJ, Maritz FJ, Taljaard JJ. Isoenzymes of adenosine deaminase in pleural effusions: a diagnostic tool? *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2(10):831-5.
  28. Zuckerman SH, Olson JM, Douglas SD. Adenosine deaminase activity during in vitro culture of human peripheral blood monocytes and pulmonary alveolar macrophages. *Exp Cell Res* 1980;129:281-7.
  29. Gakis C, Calia GM, Naitana AG, Ortu AR, Contu A. Serum and pleural adenosine deaminase activity. Correct interpretation of the findings. *Chest* 1991;99(6):1555.
  30. Hoffee PA, Hunt III SW. Deoxycofomycin resistant mammalian cells that overproduce adenosine deaminase. *Adv Exp Med Biol* 1984;165(ptA):405-11.
  31. Schmidt G. Veber fermentative desaminierung in muskel. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 1928;179:243.
  32. Nishihara H, Akedo H, Okada H, Hattori S. Multiple enzyme pattern of serum adenosine deaminase by agar gel electrophoresis: an evaluation of the diagnostic value in lung cancer. *Clin Chim Acta* 1970;30(2):251-8.
  33. Piras MA, Gakis C. Cerebrospinal fluid adenosine deaminase activity in tuberculous meningitis. *Enzyme* 1972/1973;14:311-7.
  34. Piras MA, Gakis C, Budroni M, Andreoni G. Adenosine deaminase activity in pleural effusions: an aid to differential diagnosis. *Brith Med J* 1978;2(6154):1751-2.
  35. Ungerer JP, Grobler SM. Molecular forms of adenosine deaminase in pleural effusions. *Enzyme* 1988;40(1):7-13.
  36. Kataria YP. Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Chest* 2001;120(2):334-5.
  37. Pérez-Rodríguez E, Castro DJ. The use of adenosine deaminase and adenosine deaminase isoenzymes in the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Curr Opin Pulm Med* 2000;6:259-66.
  38. Pérez-Rodríguez E, Pérez W II, Sanchez Hernandez JJ, et al. ADA1/ADAp ratio in pleural tuberculosis: an excellent diagnostic parameter in pleural fluid. *Respir Med* 1999;93:816-21.
  39. Fiuza de Melo FA. Atividade da adenosina desaminase (ADA) isolada e combinada a outras variáveis no diagnóstico da tuberculose pleural e sua aplicabilidade em infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH). [Doutorado]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 1997.
  40. Neves DD. Modelos de predição no diagnóstico da tuberculose pleural: importância da adenosina desaminase. [Doutorado]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2003.
  41. Bañales JL, Pineda PR, Fitzgerald M, Rubio H, Selman M, Salazar-Lezama M. Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusions: a report of 218 patients and review of the literature. *Chest* 1991;99(2):355-7.
  42. Vidal R, de Garcia J, Ruiz J, Fite E, Monsó E, Martín N. Estudio controlado de 637 pacientes con tuberculosis. Diagnóstico y resultados terapéuticos con esquemas de 9 y 6 meses. *Med Clin (Barc)* 1986;87:3368-70.

43. Chalhoub M, Cruz AA, Marcilio C, Netto MB. Valor da determinação da atividade da adenosina desaminase (ADA) no diagnóstico diferencial dos derrames pleurais. *Rev Assoc Med Bras* 1996;42(3):139-46.
44. Orriols R, Coloma R, Ferrer J, Vidal R, Morell F. Adenosine deaminase in tuberculous pleural effusion. *Chest* 1994;106(5):1633-4.
45. Ocaña I, Martínez-Vázquez JM, Segura RM, Fernández-de-Sevilla T, Capdevila JS. Adenosine deaminase in pleural fluids: a test for diagnosis of tuberculosis pleural effusions. *Chest* 1983;84(1):51-53.
46. Pettersson T, Ojala K, Weber TM. Adenosine deaminase in the diagnosis of pleural effusions. *Acta Med Scand* 1984;215:299-304.
47. Maritz FJ, Malan C, Roux I. Adenosine deaminase estimations in the differentiation of pleural effusions. *S Afr Med J* 1982;62:556-8.
48. Mendoza J, May J, Gutiérrez M, Faccin A. Determinación de adenosindeaminasa (ADA) en líquido pleural: utilidad en el diagnóstico de tuberculosis pleural. *Bol Hosp San Juan de Dios* 1989;36(1):12-5.
49. I Consenso Brasileiro de Tuberculose. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. *J Pneumol* 1997;23(6):281-342.
50. Martínez-Vasquez JM, Ribera E, Ocaña I, Segura RM, Serrat R, Sagrista J. Adenosine deaminase activity in tuberculous pericarditis. *Thorax* 1986;41:888-9.
51. Koh KK, In HH, Lee KH, Kim EJ, Cho CH, Kim MH. New scoring system using tumor markers in diagnosing patients with moderate pericardial effusions. *Int J Cardiol* 1997;61(1):5-13.
52. Koh KK, Kim EJ, Cho CH, Choi MJ, Cho SK, Kim SS, Kim MH, Lee CJ, Jin SH, Kim JM. Adenosine deaminase and carcinoembryonic antigen in pericardial effusion diagnosis, especially in suspected tuberculous pericarditis. *Circulation* 1994;89(6):2728-35.
53. Segura RM, Pascual C, Ocaña I, Martínez-Vázquez JM, Ribera E, Ruiz I, Pelegri MD. Adenosine deaminase in body fluids: a useful diagnostic tool in tuberculosis. *Clin Biochem* 1989;22:141-8.
54. Komsuoglu B, Goldeli O, Kulan K, Komsuoglu SS. The diagnostic and prognostic value of adenosine deaminase in tuberculous pericarditis. *Eur Heart J* 1995;16(8):1126-30.
55. Martínez-Vasquez JM, Ocaña I, Ribera E, Segura RM, Pascual C. Adenosine deaminase activity in the diagnosis of tuberculous peritonitis. *Gut* 1986;27:1049-53.
56. Hillebrand DJ, Runuon BA, Yasmineh WC, Rynders GP. Ascitic fluid adenosine deaminase insensitivity in detecting tuberculous peritonitis in the United States. *Hepatology* 1996;24(6):1408-12.
57. Brant CQ, Silva MR Jr, Macedo EP, Vasconcelos C, Tamaki N, Ferraz ML. The value of adenosine deaminase (ADA) determination in the diagnosis of tuberculous ascites. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1995;37(5):449-53.
58. Voigt MD, Kalvaria I, Trey C, Berman P, Lombard C, Kirsch RE. Diagnostic value of ascites adenosine deaminase in tuberculous peritonitis. *Lancet* 1989;1(8641):751-4.
59. Aguado JM, Pons F. Adenosina deaminase and tuberculous peritonitis. *Lancet* 1989;1(8649):1260-1.
60. Bhargava DK, Nijhawan S, Gupta M. Adenosina deaminase tuberculous peritonitis. *Lancet* 1989;1(8649):1261.
61. Ribera E, Martínez Vasquez JM, Ocaña I, Ruiz I, Jimenez JG, Encabo G, Segura RM, Pascual C. Diagnostic value of ascites gamma interferon levels in tuberculous peritonitis. Comparison with adenosine deaminase activity. *Tubercle* 1991;72:193-7.
62. Ribera E, Martínez-Vázquez JM, Ocaña I, Segura RM, Pascual C. Activity of adenosine deaminase in cerebrospinal fluid for the diagnosis and follow-up of tuberculous meningitis in adults. *J Infect Dis* 1987;155(4):603-7.
63. Mishra OP, Loiwai V, Ali Z, Nath G, Chandra L. Cerebrospinal fluid adenosine deaminase activity for the diagnosis of tuberculous meningitis in children. *J Trop Pediatr* 1996;42(3):129-32.
64. Corral I, Quereda C, Navas E, Martín-Davila P, Pérez-Elias MJ, Casado JL, Pintado V, Cobo J, Pallares E, Rubi J, Moreno S. Adenosine deaminase activity in cerebrospinal fluid of HIV-infected patients: limited value for diagnosis of tuberculous meningitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004;23(6):471-6.
65. Yuksel H, Akoglu TF. Serum and synovial fluid adenosine deaminase activity in patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis and reactive arthritis. *Ann Rheum Dis* 1988;47(6):492-95.
66. Heerden IJ, Plessis DJ. Adenosine deaminase in urine, a marker for urinary tract tuberculosis. *SAMT* 1986;70:121.
67. Bovornkitti S, Pushpakon R. Adenosine deaminase in bronchoalveolar lavage fluid. *Chest* 1988;94:1113.
68. Dimakou KE, Bakakos P, Samara I, Rassidakis A, Orphanidou M, Toumbis M, Gaga M, Latsi P, Jordanoglou J. Pulmonary tuberculosis: adenosine deaminase activity in sputum. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157(3):A575.
69. Baganha MF, Marques MAT, Mesquita L, Mota Pinto A, Alcobia C, Botelho MF, Santos Rosa MA. Interesse da adenosinadeaminase (ADA) da expectoração no diagnóstico da tuberculose pulmonar (TP). *Rev Pneumol Portuguesa* 1998;IV(5):495.

70. Oliveira HG, Martins SAG, Silveira IP, Haas VL, Prolla JC. Adenosina deaminase (ADA) no lavado broncoalveolar: perspectivas. *J Pneumol* 1990; 16(S1):70.
  71. Orphanidou D, Stratakos G, Rasidakis A, Toumbis M Samara J, Bakakos P, Jordanoglou J. Adenosine deaminase activity and lysozyme levels in bronchoalveolar lavage fluid in patients with pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2(2):147-52.
  72. Kubota M, Katagiri M, Yanase N, Soma K, Tomita T. [Measurement of adenosine deaminase activity in bronchoalveolar lavage fluids as a tool for diagnosing miliary tuberculosis] [abstract]. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi* 1996;34(2):139-44.
  73. Kayacan O, Karnak D, Delibalta M, Beder S, Karaca L, Tutkak H. Adenosine deaminase activity in bronchoalveolar lavage in Turkish patients with smear negative pulmonary tuberculosis. *Respir Med* 2002;96(7):536-41.
  74. Dilmac A, Ucoluk GO, Ugurman F, Gozu A, Akkalyoncu B, Eryilmaz T, Samurkasoglu B. The diagnostic value of adenosine deaminase activity in sputum in pulmonary tuberculosis. *Respir Med* 2002;96(8):632-4.
  75. Yasuhara A, Nakamura M, Shuto H, Kobayashi Y. Serum adenosine deaminase activity in the differentiation of respiratory diseases in children. *Clin Chem Acta* 1986;161:341-5.
  76. Nishihawa H, Suga M, Ando M, Tanaka F, Araki S. Serum adenosine deaminase activity with mycoplasma pneumoniae. *Chest* 1988;94:1315.
  77. Conde MB, Marinho SR, Pereira M de F, Lapa e Silva JR, Saad MH, Sales CL, Ho JL, Kritski AL. The usefulness of serum adenosine deaminase 2 (ADA2) activity in adults for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Respir Med* 2002;96(8):607-10.
  78. Collazos J, España P, Mayo J, Martinez E, Izquierdo F. Avaliação sequencial da adenosina desaminase sérica em pacientes tratados com tuberculose. *Chest* 1998;114:432-5.
  79. Shibagaki T, Hasegawa Y, Saito H, Yamori S Shimokata K. Adenosine deaminase isozymes in tuberculous pleural effusion. *Lab Clin Med* 1996;127(4): 348-52. ■
-