



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

“Dr. Ismael Cosío Villegas”

SECRETARIA DE SALUD

México D.F.

**“Punto de corte diagnóstico de actividad de enzima
Adenosina Desaminasa para tuberculosis pleural
mediante técnica sistematizada en el Instituto
Nacional de Enfermedades Respiratorias”**

**TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TITULO DE LA ESPECIALIDAD DE
NEUMOLOGIA**

P R E S E N T A

**DR. CARLOS CAMARENA
CISNEROS**

TUTOR: DR. MIGUEL ANGEL SALAZAR LEZAMA

MEXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FIRMAS



Profesor titular del curso:

Dr. Juan Carlos Vázquez García

Profesor titular del curso de posgrado en Neumología Universidad Nacional Autónoma de México

Director de enseñanza. INER

Teléfono: (55) 5487 1700

Correo electrónico: drjcvazquez@yahoo.com.mx

Representante enseñanza:

Dra. Margarita Fernández Vega.

Subdirector de Enseñanza INER

Teléfono: (55) 5487 1700

Correo: fvmarg@prodigy.net.mx

Tesista:

Dr. Carlos Camarena Cisneros

Residente de cuarto año de la especialidad de Neumología INER

Teléfono: 3313193116

Correo electrónico: carloscaci@hotmail.com

Tutor:

Dr. Miguel Ángel Salazar Lezama

Jefe del servicio clínico pabellón 2, INER

Teléfono: (55) 5487 1700

Correo electrónico: miguelsalazar02@gmail.com

Colaboradores:

Dr. Luis Torre Bouscoulet

Subdirector de Investigación Clínica, INER.

Teléfono: (55) 5487 1700

Correo electrónico: luistorreb@gmail.com

QFB. María Esther Jaime Capetillo

Químico farmacobiólogo. Laboratorio Clínico. INER.

Teléfono: (55) 5487 1700

Correo electrónico: tetejaime_2001@yahoo.com.mx

AGRADECIMIENTOS

A mi madre Elvira Cisneros por estar siempre a mi lado, su constante apoyo y consejos que he recibido.

A mi esposa Ivis Villalobos por su paciencia y apoyo.

Agradezco a mis tutores Miguel Ángel Lezama y Luis Torre Bouscoulet por su ayuda, paciencia y colaboración, sin la cual no podría haber completado la investigación.

A María Esther Jaime Capetillo por su gran ayuda en la realización del trabajo de investigación.

A Juan Luis Martínez, por la idea de investigación y guía en metodología.

A mis profesores de Especialidad de Neumología por su guía y enseñanzas.

A mis compañeros residentes de Neumología por su apoyo.

Título del proyecto:

“Punto de corte diagnóstico de actividad de enzima Adenosina Desaminasa para tuberculosis pleural mediante técnica sistematizada en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias”

Investigador principal:

Dr. Carlos Camarena Cisneros

Residente de cuarto año de la especialidad de Neumología
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, INER.

Teléfono: (33) 1319 3116

Correo electrónico:

carloscaci@hotmail.com

Funciones: Desarrollo del protocolo, revisión de los expedientes, revisión de cultivos y biopsias, discusión y participación en la redacción de los documentos finales.

Tutor:

**Dr. Miguel Ángel Salazar
Lezama**

Jefe del servicio clínico pabellón 2, INER.

Teléfono: (55) 5487 1700

Correo electrónico: miguelsalazar02@gmail.com

Funciones: Tutor en el desarrollo del protocolo, análisis de los datos, discusión y participación en la redacción de los documentos finales.

Colaboradores:

Dr. Luis Torre Bouscoulet

Subdirector de Investigación Clínica, INER.

Teléfono: (55) 5487 1700

Correo electrónico: luistorreb@gmail.com

Funciones: Análisis de los datos, asesoría metodológica, discusión y participación en la redacción de los documentos finales.

QFB. María Esther Jaime Capetillo

Químico farmacobiólogo. Laboratorio Clínico. INER.

Teléfono: (55) 5487 1700

Correo electrónico: tetejaime_2001@yahoo.com.mx

Funciones: Participación en el desarrollo del protocolo, captura y procesamiento de líquidos pleurales.

Dr. Juan Luis Martínez Díaz

Residente alta especialidad en Fisiología Respiratoria del
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, INER.

Teléfono: (55) 1977 3826

Correo electrónico: lix_i_doc@hotmail.com

Funciones: Participación en el desarrollo del protocolo, asesoría metodológica.

Índice	
Introducción.....	2
Antecedentes.....	5
Planteamiento del problema.....	12
Justificación.....	13
Objetivos.....	14
Material y Métodos.....	15
Análisis estadístico.....	19
Implicaciones éticas.....	20
Resultados.....	21
Discusión.....	27
Conclusión.....	29
Bibliografía.....	30
Cuadros.....	33

Introducción:

La tuberculosis (TB) es la primera causa de muerte de las enfermedades infecciosas curables. Es una enfermedad causada por la *Micobacterium tuberculosis*, la cual afecta al humano desde hace 5000 años. Fue descubierto en 1882 por Sir Robert Koch, con medicamentos efectivos desde hace medio siglo. Un tercio de la población mundial esta infectada por el bacilo, aproximadamente 10% tienen el riesgo de presentar la enfermedad. En el 2009, se estimó una incidencia global de TB de 9.4 millones de casos y 1.3 millones de muertes. (1)

La tuberculosis pleural es la segunda causa de presentación extrapulmonar de TB después de la linfadenitis tuberculosa (29%) (2). Un fallo en el diagnóstico y tratamiento de la TB pleural, puede resultar en una enfermedad progresiva con involucro en otros órganos hasta en un 65% de los pacientes (3).

Los métodos convencionales de diagnóstico para la TB pleural han probado ser ineficientes. La examinación directa del líquido pleural y con tinción de Ziehl Neelsen requiere concentraciones mayores de 10,000 bacilos por mililitro, con una sensibilidad de (0 al 1%) (4; 5). El cultivo tiene una mayor sensibilidad (11 al 50%) (6; 7) pero requiere de 2 a 6 semanas para el adecuado crecimiento y un mínimo de 10 a 100 bacilos viables. La sensibilidad de la biopsia pleural es aún mayor que la del cultivo (71 al 80%) (5; 4), pero requiere adiestramiento, patólogo experto, es más invasiva y está sujeta a la calidad de la biopsia.

La medición de interferón gama (IFN) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar la secuencia específica del genoma de *M. tuberculosis* ha mostrado una mayor sensibilidad que el cultivo o la examinación directa del líquido pleural (8; 9; 10; 11). Siendo el IFN- el método más sensible y específico de todos los marcadores. (15).

La enzima adenosina desaminasa (ADA) participa en la degradación de purinas convirtiendo la adenosina a inosina y la desoxiadenosina a desoxinosina. Es esencial para la diferenciación de células linfocíticas, particularmente de células T

y juega un papel en la maduración de monocitos a macrófagos. Una deficiencia hereditaria de ADA se asocia con una deficiente inmunidad celular y humoral. Su actividad normal tiene lugar preferentemente en el tejido linfoide y por ello su concentración estaría elevada en aquellos procesos en los que interviene activamente la inmunidad celular. Concentraciones altas de ADA se han encontrado en enfermedades hepáticas, mononucleosis infecciosas, fiebre tifoidea y leucemia aguda. Fluidos cerebrospinales en meningitis tuberculosa muestran niveles altos de actividad de ADA y derrames pleurales tuberculosos muestran mayores actividades de ADA que derrames pleurales malignos y paraneumónicos. (8)

Un valor de ADA por debajo del punto de corte descarta casi con seguridad la existencia de TB pleural; por el contrario, un valor de ADA superior al punto de corte resulta menos informativo.

A medida que la prevalencia de la infección sea menor, una cifra de ADA superior al punto de corte posee menos valor.

En zonas en las que la TB supone una importante causa de derrame pleural, como en los países en vías de desarrollo, la cuantificación de ADA se muestra como una prueba sencilla que ayuda al diagnóstico.

El incremento de ADA en líquido pleural está relacionada con la atracción de linfocitos T al foco inflamatorio y su posterior destrucción y liberación de la enzima. Por esta razón esta circunstancia también se presenta en otras afecciones, en neoplasias, enfermedades autoinmunes, o en empiemas no tuberculosos. Desde el punto de vista clínico, es muy interesante que un valor de ADA por debajo del valor discriminante óptimo, prácticamente descarta el origen tuberculoso del proceso (en la mayoría de las publicaciones la sensibilidad de ADA es cercana al 100%). (13)

La alta sensibilidad y especificidad del ADA en el diagnóstico diferencial de la tuberculosis pleural ha sido probada en estudios realizados en áreas con alta prevalencia de tuberculosis, como México, España y Brasil. Esto sustenta el uso

del ADA como auxiliar diagnóstico en poblaciones con moderada a alta prevalencia de TB. (8, 14, 15)

La actividad de ADA tradicionalmente se ha realizado con el método de Giusti (16), en el cual se mide por colorimetría la formación de amonio; actualmente este método se ha remplazado por el método Oosthuizen (17), se trata de un método cinético colorimétrico basado en la acción hidrolítica del enzima ADA sobre la adenosina para formar inosina, sobre la que actúa la purina nucleósido fosforilasa (PNF) para dar lugar a hipoxantina y ribosa-1-fosfato. La hipoxantina es oxidada a ácido úrico y peróxido de hidrógeno por acción de la xantina oxidasa.

Se determina el peróxido de hidrógeno formado mediante la 4-amino-antipirina y la N-etil-N-(2-hidroxipropil)-3-metil-anilina (TOOS) en presencia de peroxidasa produciendo un compuesto coloreado.

La determinación de los parámetros de la prueba de ADA, al igual que cualquier otra prueba diagnóstica, está determinada por la prevalencia de la enfermedad en la población estudiada, el diseño y la metodología del estudio. Lo que lleva a que existan diferentes valores discriminatorios (puntos de corte) para esta prueba diagnóstica (16).

El propósito de este estudio es determinar el punto de corte diagnóstico de ADA para derrame pleural tuberculoso con el método de medición de Oosthuizen ajustado a la prevalencia actual en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias en México.

Antecedentes

El espacio pleural se localiza entre la pleura parietal que reviste la pared torácica y la pleura visceral que recubre el pulmón. Bajo condiciones de normalidad está ocupado por una escasa cantidad de líquido que actúa como lubricante entre ambas superficies pleurales. En adultos, el volumen normal de líquido pleural (LP) oscila entre 0.1 y 0.2 ml/kg/día que se mantiene en constante recambio a una velocidad de 0.15 ml/kg/h. La reabsorción se realiza a través de los vasos linfáticos de la pleura parietal. La celularidad está conformada por macrófagos (75%), linfocitos (23%) y células mesoteliales (1%) y el contenido de proteínas no debe exceder 1.5 g/dl. (1) La acumulación anormal del líquido en el espacio pleural establece el diagnóstico de derrame pleural (DP).

Diversas enfermedades se manifiestan con derrame pleural, las causas más frecuentes incluyen insuficiencia cardíaca, neumonía y cáncer. (2) Sin embargo, existen otras causas menos comunes que requieren un abordaje diagnóstico más extenso con el objetivo de conocer la causa principal del derrame. La identificación oportuna de la causa del derrame pleural permite implementar una adecuada estrategia terapéutica y se ha relacionado con un mejor pronóstico.

Las condiciones patológicas que favorecen la acumulación de líquido dentro de la cavidad pleural pueden englobarse en los siguientes ocho grupos: a) aumento de la presión hidrostática; b) aumento de la permeabilidad vascular; c) disminución de la presión oncótica; d) aumento de la presión negativa intrapleural; e) disminución del drenaje linfático; f) origen en el espacio peritoneal; g) rotura de vasos sanguíneos; h) rotura del conducto torácico. (3)

Tuberculosis pleural:

La tuberculosis pleural, o “pleuritis tuberculosa” se define como un trastorno inflamatorio de la pleural debido a *Mycobacterium tuberculosis* y que se manifiesta con la presencia de un derrame pleural de tipo exudativo. A pesar de su estrecha proximidad con tejido pulmonar, la tuberculosis pleural se considera una forma de tuberculosis extrapulmonar. (4)

Se acepta en la actualidad que el mecanismo por el que se produce el derrame pleural tuberculoso es de tipo inmunológico. La ruptura de un foco subpleural determina la presencia del antígeno tuberculoso en el espacio pleural, los cuales interactúan con linfocitos T sensibilizados resultando en la liberación de citoquinas y en activación de la cascada inflamatoria, con el resultante aumento de la permeabilidad de la circulación microvascular y la producción del derrame pleural. (2)

Aunque inicialmente considerada una forma de tuberculosis propia de la niñez y de la juventud temprana, hoy se sabe que existe una tendencia a presentarse en edades mayores, resultando en una mayor dificultad diagnóstica por la existencia de otras múltiples causas de derrame pleural en estos grupos de edad, incluyendo la posibilidad de derrame pleural maligno. (5)

El derrame pleural tuberculoso es casi siempre unilateral y de pequeño a moderado tamaño. Solo en la tercera parte de los pacientes se observa en la radiografía de tórax lesión coexistente a nivel de parénquima pulmonar, siendo esta típicamente ipsilateral al derrame. El líquido pleural en la gran mayoría de los casos es de aspecto seroso, aunque se ha descrito serohemático en menos del 10% de los casos. El estudio cito químico reporta la presencia de un exudado predominantemente linfocítico, señalándose incluso que un conteo de linfocitos mayor de 90 a 95% es altamente sugestivo de tuberculosis. Aproximadamente en un 20% de los casos se observan niveles de glucosa menores de 60 mgs, coincidiendo con cifras bajas de pH en líquido pleural. (6)

Clínicamente la pleuritis tuberculosa se presenta más frecuentemente de forma aguda, con tos y dolor torácico como manifestaciones principales, por lo que

puede confundirse con una neumonía bacteriana cursando con derrame paraneumonico. En aproximadamente 33% de los casos la enfermedad se presenta de forma crónica e indolente. (2)

La evolución del derrame pleural tuberculoso, aun sin tratamiento, es hacia la resolución espontánea. Sin embargo, un 65% de los casos no tratados reaparecen en un plazo de cinco años manifestándose como tuberculosis activa. De ahí la importancia de diagnosticar y tratar a todo paciente con esta patología. (5)

Diagnóstico de tuberculosis pleural:

Los tests convencionales para el diagnóstico de la tuberculosis pleural (TP), son: el examen microscópico del líquido y del tejido pleural para evidenciar bacilos ácido-alcohol resistentes (coloración de Zielh-Neelsen), el cultivo para el bacilo de Koch en el líquido, esputo o tejido pleural, y el estudio histopatológico de la biopsia pleural para demostrar la presencia de inflamación granulomatosa con o sin necrosis caseosa. Estas pruebas tienen limitaciones reconocidas para el uso clínico, sin embargo, combinadas siguen siendo el gold standard para la evaluación de la eficacia de los nuevos tests. (7)

La baciloscopía o coloración de Zielh-Neelsen (ZN), es positiva en el 5,0 % de los casos de TP debido a que la muestra de líquido pleural es paucibacilar.

El cultivo del líquido pleural también posee baja sensibilidad (24,0 %-58,0 %) y su uso es limitado por el tiempo de espera para obtener el resultado en 8 semanas o más, si el medio de cultivo es sólido. (7)

La biopsia pleural y el cultivo del líquido o tejido, siguen siendo las herramientas diagnósticas más accesibles actualmente, pero aún se obtienen falsos negativos en un 15,0 % a 20,0 % de los casos. Por otra parte, la biopsia pleural es un método invasivo cuyas complicaciones son operador-dependiente, debido a que técnicamente es difícil, particularmente en niños. Debido a las limitaciones de los tests convencionales mencionados, más el tiempo de espera de los resultados del

cultivo, se han evaluado nuevos métodos y biomarcadores para el diagnóstico de la TP. (7)

En un estudio realizado en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias de México, Salazar y Quiroz demostraron en 247 pacientes egresados con diagnóstico de tuberculosis pleural, una positividad para BK en líquido pleural de 5% y para cultivo del mismo líquido de 19%, mientras que la biopsia de pleura resultó positiva en 90% de los pacientes, cifras todas ellas que están en correspondencia con lo reportado en la literatura universal. (8)

Recientemente se ha puesto mucho énfasis en la utilización de diferentes marcadores biológicos en el líquido pleural que puedan contribuir al diagnóstico de tuberculosis pleural. Además de la determinación de la actividad de adenosina desaminasa, han sido utilizados la determinación de ácido tuberculoestearico, de lisosina y de interferón gamma. Sin embargo por los resultados variables obtenidos con su utilización el alto costo y las limitaciones para recomendar su utilización de manera amplia, no es posible definir al momento actual la verdadera utilidad diagnóstica de dichos métodos.

Considerable expectativa ha sido desarrollada recientemente por el uso de método de amplificación de DNA de micobacterium tuberculosis en líquido pleural mediante la reacción de polimerasa en cadena PCR. Algunos estudios lo señalan como un método rápido, sensible y específico para el diagnóstico de tuberculosis pleural. Sin embargo, debido a la muy alta sensibilidad del PCR, existe preocupación en relación a que la prueba podría detectar DNA de micobacterium tuberculosis en pacientes con infección pero no con enfermedad, o bien, detectar contaminantes dando lugar a falsos positivos. La recomendación de muchos autores en la actualidad es que el PCR se siga considerando un procedimiento de investigación hasta obtener resultados de estudios mas amplios en poblaciones con diferentes niveles de prevalencia de tuberculosis. (5)

Adenosina desaminasa:

La adenosina desaminasa (ADA), es una enzima del catabolismo de las purinas que cataliza la deaminación irreversible de adenosina y 2-deoxiadenosina a inosina y deoxinosina respectivamente, liberando amonio en el proceso. (9)

La función fisiológica principal de la ADA , está relacionada con la proliferación y diferenciación linfocítica. Como marcador de inmunidad celular , su actividad se encuentra aumentada en aquellas enfermedades en las cuales la respuesta inmune está mediada por células (10).

La ADA tiene dos isoenzimas ADA 1 y ADA 2:

La ADA 1 se encuentra ampliamente distribuido, tiene un PH óptimo entre 7 y 7.5, actúa por igual sobre los sustratos adenosina y deoxiadenosina, regulando la inmunidad celular. La ADA 2 es menos ubicuo, coexiste con la ADA 1 únicamente en monocitos y macrófagos, tiene un PH óptimo de 6.5 y tiene una afinidad débil por la 2-deoxiadenosina. (11)

Cuando los monocitos y macrófagos son infectados por micro organismos intracelulares, se incrementan los niveles de la ADA 2 y 2-deoxiadenosina, dirigidos contra estos micro organismos (12), jugando un papel preponderante en la inmunidad celular.

Adenosina desaminasa en diferentes fluidos

La actividad de la ADA en los diferentes fluidos es debida a una mezcla de la ADA 1 y la ADA 2 y estimar la cantidad precisa de cada isoenzima es complicada y poco práctica.

Se ha encontrado un aumento de la actividad de la ADA sérica en diferentes entidades: enfermedades hepáticas, tuberculosis (TB), fiebre tifoidea, mononucleosis infecciosa y ciertas neoplasias, especialmente de origen hematológico. Los mecanismos exactos de dicho aumento en suero no se conocen con exactitud (12). En pacientes con infección por VIH se han

encontrado altos niveles de la ADA sérica, a expensas principalmente de la isoenzima ADA 2. (13)

En líquido pleural se ha encontrado una alta actividad de la ADA en TB pleural con una sensibilidad del 99% y una especificidad del 93% (14); sin embargo en otros procesos como neumonía, empiema, linfoma, neoplasias y lupus eritematoso sistémico, también se ha encontrado una alta actividad de esta enzima a nivel del líquido pleural (14)

Se han descrito numerosos métodos para la determinación de la actividad de ADA. (15)

Existen métodos radiométricos que utilizan como sustrato adenosina marcada con ^{14}C o ^3H . Pero se trata de métodos que, aunque son muy sensibles, requieren instrumental del que no siempre se dispone en los laboratorios clínicos. Además son métodos lentos.

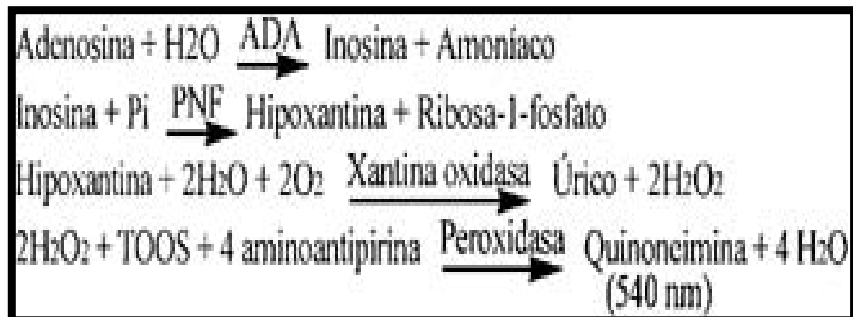
Entre los métodos espectrofotométricos cinéticos destacan aquellos en los que se determina el amoníaco liberado en la reacción de desaminación catalizada por el ADA (16). El método en que se determina el amoníaco mediante la reacción de deshidrogenación del ácido 2-cetoglutarico presenta la ventaja de ser fácilmente automatizable. Sin embargo, hay que tener en cuenta que es necesario un blanco de muestra para eliminar interferencias por amoníaco endógeno y exógeno.

En otro tipo de métodos se calcula la actividad del ADA mediante la determinación de la inosina (17) liberada en la reacción de desaminación a través de una serie de reacciones enzimáticas acopladas.

En el presente trabajo, se presenta la adaptación de un nuevo reactivo comercial (Diazyme, DZ117A-K) para la determinación colorimétrica de ADA, basado en la cuantificación de inosina.

Se trata de un método cinético colorimétrico basado en la acción hidrolítica del enzima ADA sobre la adenosina para formar inosina, sobre la que actúa la purina

nucleósido fosforilasa (PNF) para dar lugar a hipoxantina y ribosa-1-fosfato. La hipoxantina es oxidada a ácido úrico y peróxido de hidrógeno por acción de la xantina oxidasa. Se determina el peróxido de hidrógeno formado mediante la 4-amino-antipirina y la N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-metilanilina (TOOS) en presencia de peroxidasa produciendo un compuesto coloreado, según el siguiente esquema:



Planteamiento del problema

¿Cuál es el valor de corte de la enzima ADA con el método colorimétrico cinético sistematizado de Oosthuizen para el diagnóstico de tuberculosis pleural, ajustada a la prevalencia actual en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias?

Justificación

La prevalencia actual del tuberculosis en el instituto ha cambiado, es necesario actualizar el nivel de corte diagnóstico de ADA ajustado a la prevalencia actual, además existe un nuevo método de medición sistematizado con métodos de medición y valores diferentes que deben validarse, por lo que es necesario obtener un punto de corte adecuado para la población actual de en nuestro instituto lo que esto ayudara a un diagnóstico más apropiado de acuerdo a las exigencias actuales

Objetivos

Principal:

Determinar el punto de corte ideal por el método colorimétrico cinético sistematizado de Oosthuizen para la obtención de valor de ADA en líquido pleural que da la mejor sensibilidad y especificidad, para el diagnóstico de Tuberculosis pleural en pacientes del Instituto Nacional de Enfermedades respiratorias. Periodo Agosto 2013- Julio 2014. Ajustado a la prevalencia actual.

Secundarios:

Investigar la prevalencia de tuberculosis pleural en de los pacientes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Periodo Agosto 2013- Julio 2014

Determinar la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de ADA en Líquido pleural con el método colorimétrico cinético sistematizado de Oosthuizen para el diagnóstico de Tuberculosis pleural en pacientes del Instituto Nacional de Enfermedades respiratorias. Periodo Agosto 2013- Julio 2014

Pacientes y Métodos

Tipo de estudio:

- Se realizó un estudio Observacional, transversal.

Pacientes:

Durante el periodo de Agosto del 2013 a Julio del 2014 se obtuvieron muestras de líquido pleural en 626 individuos con derrame pleural, que ingresaron al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), "Ismael Cosío Villegas" en la Ciudad de México.

Se revisaron en total 2348 cultivos, 1720 biopsias incluyendo a los pacientes con TP que fueron reconocidos como tales, cuando reunieron uno de los siguientes criterios:

1. Cultivo de líquido pleural ó de biopsia pleural positivos para BAAR.
2. Baciloscopia positiva de líquido pleural o biopsia pleural.
3. Biopsia pleural con estudio anatomo-patológico patognomónico de TB (granulomas caseificantes).
4. Evidencia clínica y radiológica de tuberculosis en ausencia de otra causa obvia asociada a derrame pleural y asociada con una respuesta positiva a la terapia antituberculosa.

Los pacientes sin TP fueron agrupados en los siguientes grupos de acuerdo a los criterios como:

1. Empiema bacteriano con líquido pleural purulento, causado por diseminación por contigüidad de una neumonía de origen bacteriano.
2. Neoplasia con presencia de tejido neoplásico en una muestra de biopsia pleural.
3. Trasudados de origen cardíaco con signos clínico radiológicos de Insuficiencia Cardíaca Congestiva Global (ICCG), alteraciones en el ECG y trasudado.
4. Trasudados de origen hepático con signos clínicos, exámenes de laboratorio y criterios de trasudado.

5. Derrame paraneumonico, causado por Neumonía identificada por cultivos de expectoración, radiografía y clínica
6. Derrame pleural secundario a Hidroneumotorax, Neumotórax o Hemótorax, con corroboración radiográfica.
7. Derrame pleural secundario a enfermedades inmunológicas, con diagnóstico clínico y por laboratorio.
8. Derrame pleural secundario a tromboembolia pulmonar, con signos clínicos y laboratorio.
9. Resto de causas de derrame pleural, como trasudados, heridas por arma de fuego, fistulas, quilotorax, iatrogénicos etc.

Variables:

Valor de la actividad de ADA expresada en UI/L.

Características demográficas: edad, sexo.

Sintomatología clínica: tos, fiebre, disnea, pérdida de peso y dolor torácico.

Factores de riesgos o prevención asociados a la TB: contacto con tuberculosos.

Análisis bioquímicos de rutina: hemograma, química sanguínea (glucosa, urea, creatinina, albumina, proteínas totales) y en líquido pleural: proteínas, LDH, glucosa.

Para determinar el punto de corte que permita la mayor sensibilidad para el diagnóstico de TB pleural, con la determinación de ADA, se utilizó la Curva Operativa para el Receptor (COR).

Para determinar la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo y negativo del nivel de ADA en líquido pleural obtenido mediante la curva COR, se realizó el cálculo por la tabla de 2x2.

El impacto diagnóstico de la valoración de ADA en líquido pleural, de acuerdo al Valor Global de la Prueba, el índice de concordancia de Youden y el cociente de probabilidad, se han obtenido según fórmulas correspondientes.

Determinación de ADA:

Las muestras fueron procesadas en el laboratorio del Instituto Nacional de

Enfermedades Respiratorias. A todos se les efectuó, además de la determinación de ADA, los siguientes exámenes en líquido pleural: recuento y fórmula leucocitaria, recuento de glóbulos rojos, glucosa, proteínas, baciloscopía directa y cultivo de BK, cultivo de gérmenes comunes.

Para la cuantificación de la actividad de la enzima ADA se empleó el método propuesto por Oosthuizen, antes mencionado (17).

Examen Histológico:

Se realizó por métodos convencionales en cortes de parafina coloreados con hematoxilina y eosina (HyE). La presencia de granulomas con células de Langhans y necrosis caseosa central fue considerada diagnóstica de TB.

Grupos de estudio

- *Criterios de inclusión*

- ✓ Líquidos pleurales de los pacientes adultos mayores de 18 años.
- ✓ Diagnóstico de Derrame pleural en estudio sin abordaje diagnóstico previo.
- ✓ Líquidos pleurales de pacientes que hayan ingresado a hospitalización por causa diferente a derrame pleural en estudio y que desarrollen derrame pleural durante la estancia hospitalaria.

- *Criterios de exclusión*

- ✓ Datos incompletos del estudio de líquido pleural necesarios para la evaluación en el estudio.
- ✓ Pacientes externos al INER
- ✓ Derrames pleurales sin determinación de ADA

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Análisis estadístico.

Se realizó estadística descriptiva de acuerdo a la distribución de las variables. El punto de corte de acuerdo a la prevalencia, mediante la realización de curvas ROC que proporcione la mayor área bajo la curva.

Se realizó estadística descriptiva de acuerdo al tipo de variable y a su distribución en media, mediana y porcentajes. Se utilizó prueba de t de student para datos independientes en las variables cuantitativas. Se analizaron los datos con el programa estadístico SPSS versión 21.

Cálculo del tamaño de muestra.

Se trata de una muestra no probabilística, por conveniencia que incluyó todos los pacientes que ingresen de forma consecutiva al INER con diagnóstico de derrame pleural en estudio durante el periodo de 1 año. La muestra se estimó de acuerdo a datos históricos en 500 muestras de líquido pleural.

Consideraciones éticas

Debido a que se trata de un estudio observacional, prospectivo en donde la herramienta de trabajo es el expediente clínico – radiológico y no realizaremos intervenciones directas sobre los pacientes y la obtención del líquido pleural se realiza con objetivos diagnósticos, no se requiere de carta de consentimiento informado. La pertinencia de realizar la toracocentesis así como el proceso diagnóstico dependerá del médico que esté a cargo del paciente y los investigadores no emitirán sugerencia alguna sobre los procedimientos o tratamientos a los que deba ser sometido el paciente.

La carta de consentimiento que firmó el paciente es la correspondiente para el procedimiento en cuestión de toma de líquido pleural. La medición rutinaria de triglicéridos no tuvo costo alguno para el paciente y contribuye con un mejor proceso diagnóstico. Todos los datos obtenidos del expediente clínico – radiológico se mantienen de forma confidencial. No se afectan los derechos humanos, no implica ningún riesgo para la salud del paciente el recabar datos de su expediente clínico. Estas consideraciones están basadas en la Declaración de Helsinki 2008.

Recursos financieros

Recursos Técnicos

- Se realizaron 626 mediciones de ADA por parte del laboratorio clínico

RESULTADOS

De los 626 líquidos pleurales obtenidos en el laboratorio clínico del INER de Agosto del 2013 a Julio del 2014; 223 quedaron excluidos debido a que se encontraban dos o más líquidos de un paciente, carecían de expediente clínico, pacientes con edad menor a 18 años ó falta de medición de ADA.

De la población final de pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión (403), se encontró que 242 fueron varones (60%) y 161 mujeres (40%). Los grupos de edades fueron de 18 a 29 años 40 casos (9.9%), de 30 a 41 años 54 casos (13.3%), de 42 a 53 años 75 casos (18.6%), de 54 a 65 años 86 casos (21.3%) y 148 casos mayores de 65 años (36.7) (Cuadro 1).

CUADRO 1. Distribución de los pacientes según edad y genero en pacientes con D.P. tuberculoso y D.P. no tuberculoso.

Sexo	Total (%)	D.P. Tuberculoso	D.P. No Tuberculoso	p
Hombres	242 (60)	19 (63.3)	223(59.7)	
Mujeres	161 (40)	11(36.6)	150(40.2)	
Total	403 (100)	30(100)	373(100)	
Edad	56.42 ± 18.3	46.7 ± 20.3	57.2 ± 17.9	0.003
18 – 29	40 (9.9)	9 (30)	31 (8.3)	
30 – 41	54 (13.3)	6 (20)	48 (12.8)	
42 – 53	75 (18.6)	4 (13.3)	71 (19.0)	
54 – 65	86 (21.3)	3 (10)	83 (22.2)	
> 65	148 (36.7)	8 (26.6)	140 (37.5)	

Las entidades clínicas según su presentación por sexo son mostradas en el Cuadro 2; la enfermedad de mayor prevalencia en la muestra fue derrame pleural neoplásico ó paraneoplásico, que fue diagnosticada en 175 (43.4%) pacientes y de ellos 91 (52%), entre otras causas de derrame pleural fueron empiemas en un 15.9%, paraneumónico en un 11.9, el resto de causas diversas ocupó el 28.8%.

Cuadro 2. Entidades clinicas segun su presentacion por sexo.

Diagnostico	Genero		Total
	Hombre	Mujer	
Derrame pleural tuberculoso	19	11	30 7.4%
Paraneoplasico o maligno	91	84	175 43.4%
Paraneumonico	34	14	48 11.9%
Empiema	50	14	64 15.9%
Inmunologicas	1	5	6 1.5%
Cardiacas	3	4	7 1.7%
Insuficiencia Hepatica	2	2	4 1.0%
TEP	3	1	4 1.0%
Neumotorax/Hidrotorax/Hemotorax	8	4	12 3.0%
Otras	30	19	49 12.2%
Micoticas	1	3	4 1.0%
Total	242	161	403 100.0%

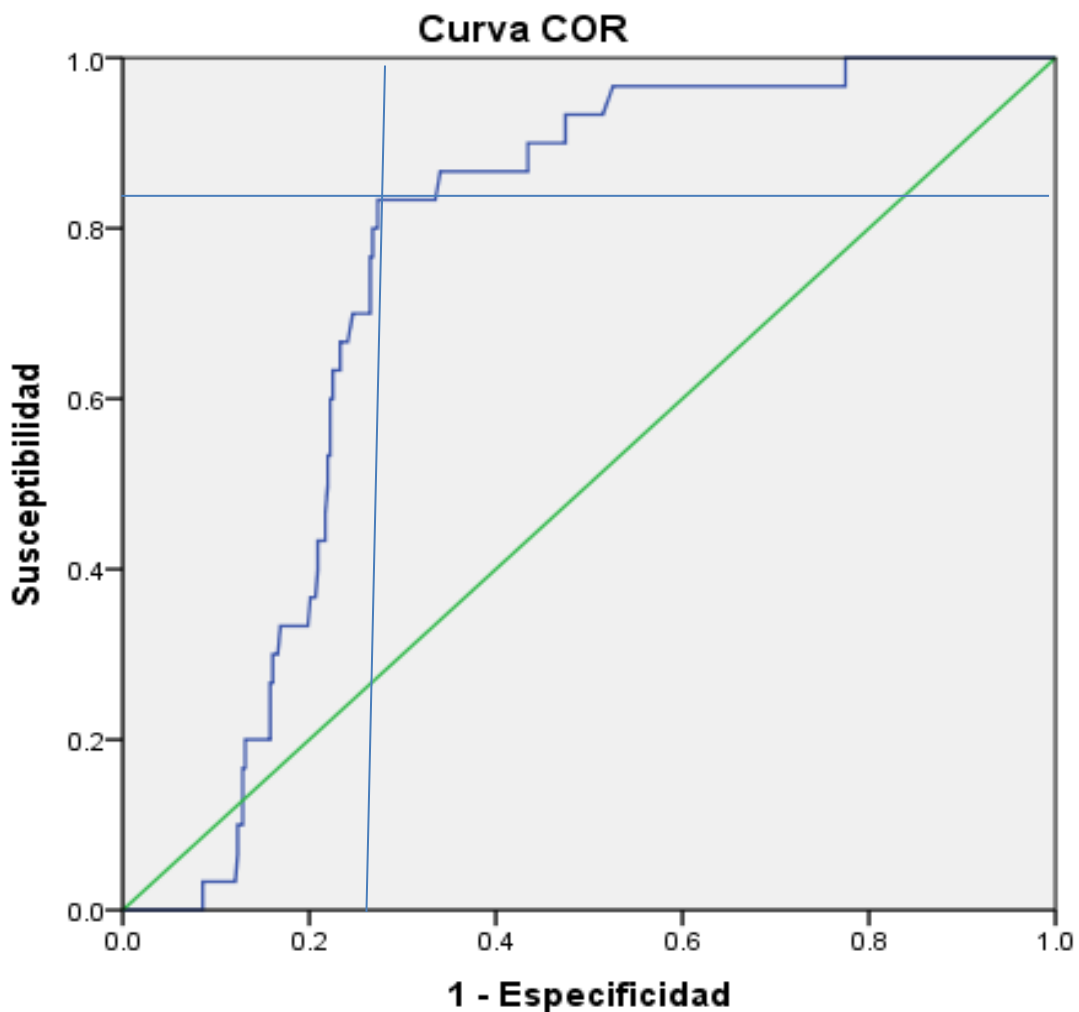
El grupo de DPT obtuvo 30 pacientes (7.4%), de los cuales 19 eran hombres (69%) y 11 eran mujeres (36.7%). El diagnostico final de derrame pleural tuberculoso se obtuvo de la siguiente forma: 14 por biopsia, 9 por clínica, 3 por cultivo de biopsia y biopsia, 2 por cultivo de líquido y biopsia, 1 por cultivo de líquido y baciloscopia y 1 por cultivo de líquido. (Cuadro 3)

Cuadro 3. Diagnostico de derrame pleural tuberculoso.

Metodo de obtencion	Frecuencia	Porcentaje
Cultivo Liquido	1	3.3
Cultivo Liquido + BAAR	1	3.3
Cultivo Liquido + Biopsia	2	6.7
Cultivo Biopsia + Biopsia	3	10.0
Clinico	9	30.0
Biopsia	14	46.7
Total	30	100.0

Respeto a la medición en líquido pleural de ADA, en el grupo DPT, la media \pm de ADA fue 42.94 U/L \pm 23.9, mientras que en el grupo no tuberculoso fue 42.09 U/L \pm 95.5.

El punto de corte calculado de adenosina desaminasa mediante la curva ROC fue 26.2 UI/L, con una sensibilidad de 83% y especificidad de 72% (Figura 1), cuya área bajo la curva fue 0.753 (IC 95%: 0.692 – 0.815; $p < 0,0001$). Posteriormente con este punto de corte (26.2 U/L), se determinó el valor predictivo positivo y negativo, que fueron 19.7% y 98.2%, respectivamente. Así como un índice J de Youden de 0.6.



Los segmentos diagonales son producidos por los empates.

Tabla 2x2.

Recuento

	Pleural		Total
	Derrame pleural tuberculoso	Derrame pleural no tuberculoso	
DeteccionADA +26.2	25	102	127
-26.2	5	271	276
Total	30	373	403

		IC 95%
Punto de corte	26.2	
Sensibilidad	83.3%	66.4% a 92.7%
Especificidad	72.7%	67.9% a 76.9%
V.P.P	19.7%	13.7% a 27.4%
V.P.N	98.2%	95.8% a 99.2%
Falsos positivos	27.3%	23.1% a 32.1%
Falsos negativos	16.7%	7.3% a 33.6%
Exactitud	73.4%	68.9% a 77.5%
Índice J de Youden	0.6	
Área bajo la curva	0.753	p<0.001
Prevalencia	7.4%	

El análisis de síntomas en el grupo tuberculoso mostro que la disnea fue el síntoma más frecuente, observado en un 28.2%, seguido por dolor torácico 23.1%, fiebre en 19.2%, tos en 15.4%, y pérdida de peso en 14.1%.

Cuadro 4. Principales síntomas en DPT.

	Respuestas	
	Nº	Porcentaje
Disnea	22	28.2%
Dolor	18	23.1%
Tos	12	15.4%
Perdida de peso	11	14.1%
Fiebre	15	19.2%
Total	78	100.0%

El color del líquido pleural fue de amarillo en 23 pacientes (76.6%), naranja en 4 pacientes (13.3%), y rojo en 3 pacientes (10%), siendo el aspecto turbio el más encontrado en 16 pacientes (53%).

Relacion aspecto y color de líquidos pleurales en DPT

Recuento

		Color			Total
		Rojo	Amarillo	Naranja	
Aspecto	Hemático	3	0	0	3
	Turbio	0	14	2	16
	Seroso	0	5	2	7
	Claro	0	1	0	1
	Ligeramente turbio	0	3	0	3
Total		3	23	4	30

El 84.9% de los pacientes con DPT tuvieron predominio linfocítico en la relación Linfocitos/Neutrófilos del líquido pleural comparado con 53.2%, con una significancia estadística $p < 0.001$

CUADRO 4. Características de líquido pleural en derrame pleural tuberculoso y no tuberculoso.

	Total	D.P. Tuberculoso	D.P. No Tuberculoso	p
Nivel ADA	42.15 ± 92	42.94 ± 23.9	42.09 ± 95.5	0.9
Aspecto				
Hemático	134 (33.3%)	3 (10%)	131 (35.1%)	
Turbio	154 (38.2%)	16 (53.3%)	138 (37%)	
Seroso	37 (9.2%)	7 (23.3%)	30 (8%)	
Serohemático	3 (0.7%)	0 (0)	3 (0.8%)	
Claro	14 (3.5%)	1 (3.3%)	13 (3.5%)	
Lechoso	6 (1.5%)	0 (0)	6 (1.6%)	
Purulento	35 (8.7%)	0 (0)	35 (9.4%)	
Ligeramente turbio	20 (5%)	3 (10%)	17 (4.6%)	
Color				
Rojo	148 (36.7%)	3 (10%)	145 (38.9%)	
Amarillo	174 (43.2%)	4 (13.3%)	151 (40.5%)	
Naranja	43 (10.7%)	23 (76.7%)	39 (10.5%)	
Café	25 (6.2%)	0 (0)	25 (6.7%)	
Verde	8 (2%)	0 (0)	8 (2.1%)	
Incoloro	1 (0.2%)	0 (0)	1 (0.3%)	
Blanco	4 (1%)	0 (0)	4 (1.1%)	
Glucosa	79.8 ± 66.1	77.4 (35.1)	80.0 ± 68.05	0.7
Proteínas	4.13 ± 8.9	4.95 ± 1.03	4.06 ± 9.28	0.6
LDH	1193 ± 4136	358.1 ± 370	1261 ± 4291	0.001
Porcentaje Linfocitos	53.2 ± 39.6	84.9 ± 16.25	50.73 ± 36.9	0.001

Discusión

La tuberculosis es una infección común en México, y es una causa frecuente de derrame pleural exudativo. El diagnóstico definitivo de Tuberculosis pleural es difícil, sobre todo por la poca probabilidad de encontrar un bacilo en líquido pleural, un cultivo de líquido positivo y los pocos centros especializados para el cultivo y proceso de biopsias. Varios estudios han demostrado que la obtención de ADA de líquido pleural es barata, rápida, con una alta sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar. En la práctica clínica la sensibilidad y la especificidad son importantes para evaluar una prueba pero no determinan por si solas su valor diagnóstico.

Para esto es necesario conocer el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo de la prueba pues determinan la probabilidad con que un resultado positivo acierte en el diagnóstico y la probabilidad con que un resultado negativo lo descarte. Estos indicadores dependen directamente de la prevalencia de la enfermedad, factor muy importante a tomarse en cuenta pues la variación de ésta puede hacer que la utilidad de la prueba sea muy distinta para poblaciones de distintos lugares.

En relación a la prueba de ADA como diagnóstica de tuberculosis pleural, varios autores han encontrado diferentes puntos de corte, que varían desde 30 hasta 100 UI/L , dependiendo esto del grupo de pacientes que formaron parte del estudio, la población cuya epidemiología del *Mycobacterium* es distinta, el método utilizado y los criterios tomados en cuenta para el diagnóstico definitivo de las diferentes enfermedades que ocasionaron el derrame pleural. No obstante las diferencias encontradas en los estudios, los autores no dudan su utilidad; incluso algunos indican que el rendimiento diagnóstico de ADA parece ser lo suficientemente alto para evitar biopsia pleural en pacientes reacios a sufrir procedimientos invasivos, especialmente en regiones que tienen una prevalencia alta de *M. tuberculosis*

El estudio de Piras y col, no obstante ser pionero sobre la materia, fue duramente criticado, puesto que su muestra solo incluyó a pacientes sanos y tuberculosos, excluyendo a otras causas de derrame pleural. Esto hizo que los valores de sensibilidad y especificidad fuesen sumamente elevados, tergiversando su verdadera utilidad como prueba diagnóstica. Posteriormente, nuevas investigaciones señalaban ser cautelosos ante los resultados de la prueba por la presencia de muchos falsos positivos, y recomendaban complementar el estudio con pruebas invasivas, como una biopsia pleural.

El punto de corte obtenido en este estudio (26.2) no se aleja mucho del recomendado por el fabricante del equipo para realizar la determinación automatizada de ADA en el laboratorio del INER (31.4 UI/L), aunque cabe recalcar que el mismo fabricante solo aconseja utilizar este valor hasta la obtención de un punto de corte local. El punto de corte previo realizado por Salazar et al hace más de 20 años fundamentado en el método de Giusti, usado como referencia en varios Hospitales de México como diagnóstico de tuberculosis pleural. Siendo la prevalencia en ese entonces de (52.6%) comparado con la prevalencia actual de 7.4 %.

Por otra parte, Light considera que es imposible establecer un valor de corte total y absoluto, ya que tanto las unidades como los métodos de medición difieren de estudio en estudio (2). La mayoría de los estudios publicados acerca de la utilidad de la ADA, sugieren que cada región debe tener su propio punto de corte para el diagnóstico de TP, con su sensibilidad y especificidad determinada. Zaric y col., encontraron que la sensibilidad de la ADA para el diagnóstico de TP fue de 89,0 %, pero su especificidad fue solo de 70,4 %. La razón de esta discrepancia entre la sensibilidad y especificidad, la atribuyen a los diferentes métodos para medir la actividad de la ADA. Según estos autores, solo un metanálisis extenso y de larga escala, confirmaría la verdadera efectividad de este test para el diagnóstico de la TP. Opinan que es necesario realizar siempre los exámenes convencionales como, el cultivo para MT y estudios de sensibilidad, sobre todo en regiones de intermedia a alta prevalencia de TBC. Consideran al ADA como un test útil para el diagnóstico de TP, pero no como alternativa de la biopsia ni del cultivo. El cultivo tanto del líquido como del tejido, constituye una herramienta muy importante y

necesaria, sobre todo en esta era del MT resistente al tratamiento (MDR tuberculosis). La ADA sería ella sola, utilizada como un primer paso de confirmación de la TP, para luego ser practicados los métodos invasivos (18)

Algunos estudios latinoamericanos y asiáticos para la obtención del punto de corte de ADA lo obtienen con limitaciones metodológicas, ya que no analizan esta variable mediante la curva ROC, que es la prueba estadística que determina el mejor punto de corte, a través de la mejor relación entre la sensibilidad y la especificidad.

Conclusiones:

Debido al alto valor predictivo negativo de la prueba se concluye que la asociación de un ADA negativo (Cifra menor a 26.2 U/L), con ausencia de síntomas compatibles con tuberculosis pleural, un recuento leucocitario de líquido con predominio polimorfonuclear, permiten excluir razonablemente el diagnóstico de Tuberculosis pleural.

Bibliografía

1. 2010, Global Tuberculosis control WHO report.
2. Mehta JB, Dutt A, Harvill L, et al. Epidemiology of extrapulmonary tuberculosis. *Chest* 1991 y 99:1134–1138.
3. Roper WH, Waring JJ. Primary serofibrinous pleural effusion in military personnel. *Am Rev Tuberc* 1955 y 71:616–34.
4. Wai W, Yeung CH, Yuk-Lins, et al. Diagnosis of tuberculous pleural effusion by the detection of tuberculo estearic acid in pleural aspirates. *Chest* 1991 y 100:1261–1263.
5. Escudero-Bueno C, Garcia-Clemente M, Cuesta-Castro B, et al. Cytologic and bacteriologic analyzes of fluid and pleural biopsy with cop's needle. *Arch Intern Med* 1990 y 150:1190–1194.
6. Barbas C, Cukier A, de Cavalho C, et al. The relationship between pleural fluid findings and development of pleural thickening in patients with pleural tuberculosis. *Chest* 1991 y 100:1264–1267.
7. De Wit D, Maartens G, Steyn L. A comparative study of the polymerase chain reaction and conventional procedures for the diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Tuber Lung Dis* 1992 y 73:262–267.
8. Salazar-Lezama M, Quiroz-Rosales H, Bañaales-Mendez JL, et al. Diagnostic methods of primary tuberculous pleural effusion in a region with high prevalence of tuberculosis: a bstudy in Mexican population. *Rev Invest Clin* 1997 y 49:453–456.
9. Burgess LI, Maritz FJ, Le Roux I, et al. Use of adenosine deaminase as a diagnostic tool for tuberculous pleurisy. *Thorax* 1995 y 50:672–674.
10. Querol JM, Minquez J, Garcí'a-Sanchez E, et al. Rapid diagnosis of pleural tuberculosis by polymerase chain reaction. *Am J Respir Crit Care Med* 1995 152:1977–1981.
11. Villena V, Rebollo MJ, Aguado JM, et al. Polymerase chain reaction for the diagnosis of pleural tuberculosis in immunocompromised. *Dis* 1998 y 26:212–214.
12. Hiraki A, Aoe K, Eda R, et al. Comparision of six biological markers for the diagnosis of tuberculosis pleuritis. *Chest* 2004 y 125:987-9.
13. Brance M, Coloccini R, Severini J, Jacobo M, Grossi G, Miljevi J. Diagnóstico de derrame pleural en adultos. *Rev. Méd. Rosario* 2001 y 122-34, 74:.
14. Chalhoub M, Cruz AA, Mareilio C, Netto MB. Value of deter-mining the activity of adenosine deaminase (ADA) in the differ-ential diagnosis of pleural effusions. *Rev Assoc Med Bras* 1996 y 42:139–46.
15. Valdes L, Alvarez D, San Jose E, Penela P, Valle JM, Garcia-Pazos JM, et al. Tuberculous pleurisy: a study of 254 patients. *Arch Intern Med* 1998 y 158:2017–21.
16. Giusti G. Adenosine deaminase. Bergmeyer HU, Ed.:Methods of enzymatic analysis. Vol II. New York: Academic Press, 1974 y 1092-109.

17. Oosthuizen HM, Ungerer JPJ, Bissbort SH. Kinetic Determination of Serum Adenosine Deaminase. *Clin Chem* 1993 y 2182-2185, 39:.
18. Gopi A, Madhavan SM, Sharma SK, Sahn SA. Diagnosis and treatment of tuberculous pleural effusion in 2006. *Chest*. 2007 y 131(3):880-9.
19. Ellis G, Goldberg DM. A reduced nicotinamide adenine dinucleotide-linked kinetic assay for adenosine deaminase activity. *J Lab Clin Med* 1970 y 76:507-17.
20. English JC, Leslie KO. Pathology of the pleura. *Clin Chest Med*. Jun 2006 y 27(2):157-180.
21. Jun, Light RW. Clinical practice. Pleural effusion. *N Engl J Med*. y 346(25):1971-1977.
22. Ryu JH, Tomassetti S, Maldonado F. Update on uncommon pleural effusions. *Respirology*. Feb y 16(2):238-243.
23. Hopewell P, Bloom. Tuberculosis and other mycobacterial diseases. *Textbook of Respiratory Medicine*. Segunda edicion. 1994.
24. Salazar, Cuadra. Correlacion adenosindesaminasa/linfocitos en el liquido pleural de origen tuberculoso. *Instituto Nacional De Enfermedades Respiratorias*, 10, 3, 160-3.
25. Med, Broaddus VC. Infections in the pleural space. An update 35. on pathogenesis and management. *Semin Respir Cnt Care* y 9, 16:303-314. 36.
26. Trajman A, Pai M, Dheda K, Van Zyl Smit R, Zwerling A A, Joshi R, et al. Novel tests for diagnosing tuberculous pleural effusion: What works and what does not?. *Eur Respir J*. 2008 y 31:1098–1106.
27. Zavialov AV, Engstron A. Human ADA2 belongs to a new family of growth factors.
28. Kashyap RS, Kainthla RP, Mudaliar AV, Purohit HJ, Taori GM and Dagainawla HF. Cerebrospinal fluid adenosine deaminase activity: a complimentary tool in the early diagnosis of tuberculous meningitis. *Cerebrospinal Fuid Res*. 2006 y 30:53.
29. Valdés L, San José E, Alvarez D, Valle JM, Adenosine Deaminasa (ADA) isoenzyme análisis in pleural effusions: diagnostic role and relevante to the origin of increased ADA in tuberculous pleurisy. *Eur Respir J*. 1996 y 747-51, 9:.
30. J., Gakis C. Adenosin Deaminase (ADA) isoenzymes ADA1 y ADA2: diagnostic and biological role. *Eur Resp* y 632-33, 9:.
31. Tsubel I, Sagawa K, Shichijo S, Yokohama MM, David W, Wiedeerhol MD Adenosine deaminasa isoenzymas levels in patients with human T-cell lymphotropic virus type 1 and human immunodeficiency virus type infections. *Clin Diagn Lab Inmunol*. 1995 y 626-30.
32. Ena J, Valls V, Pérez de Oteiza C, Enríquez de Salamanca R. Utilidad y limitaciones de la adenosin deaminasa en el diagnóstico de la pleuresía tuberculosa: estudio meta analítico. *Med Clin (Barc)* 1990 y 333-335, 95:.

33. BENGOA, A., SANZ, M. P. y RUS, A. y BORQUE, L. Nuevo procedimiento colorimétrico para la determinación de adenosina desaminasa en líquidos biológicos. Rev Diagn Biol [online]. 2001, vol.50, n.2.
34. Reyes A, Díaz M, Pérez A Bouza Y, Bouza Jiménez Y. Factores asociados con la presencia de tuberculosis en pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida en Cuba Clin Infect Dis 2002: 34:543-6.
35. Pak., Rokayan Sa. Serum Adenosine Deaminase Activity And Its Isoenzyme In Patients Treated For Tuberculosis. J Coll Physicians Surg.
36. Piras MA, Gakis C, Budroni M, Andreoni G 1978. Adenosine deaminase activity in pleural effusions: an aid to differential diagnosis. Br Med J 2: 1751-1752.

Cuadros:

