

11231

2 ej'6



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

Facultad de Medicina
División de Estudios de Postgrado

**ADENOSIN DEAMINASA: UNA AYUDA PARA EL DIAGNOSTICO
DIFERENCIAL DE LOS DERRAMES DE ORIGEN TUBERCULOSO.**

TESIS DE POSTGRADO

Que para obtener el título de

ESPECIALISTA EN NEUMOLOGIA

p r e s e n t a

DR. MIGUEL ANGEL SALAZAR LEZAMA

May

*Vol. B:
[Signature]*

I N E R

México, D. F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1966



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.

INDICE.

1.- INTRODUCCION -----	1
2.- ALGUNAS CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE LA PLEURA Y LOS DERRAMES PLEURALES -----	2
3.- MATERIAL Y METODO -----	6
4.- RESULTADOS -----	8
5.- DISCUSION -----	10
6.- CONCLUSIONES. -----	12
7.- BIBLIOGRAFIA -----	13

I.- INTRODUCCION.

La Tuberculosis aún representa un grave problema de salud pública en el mundo. Hoy día, la enfermedad es responsable de por lo menos tres millones de muertes anuales en todo el mundo, y se calcula que durante este período aparecen cuatro a cinco millones de casos contagiosos nuevos y dos de cada tres enfermos fallecen en menos de dos años. (12).

La Tuberculosis es una enfermedad relacionada íntimamente a las condiciones socio-económicas que -- privan en cada país; antes de advenimiento de medicamentos antituberculosos la enfermedad parecía ir en retroceso en los países desarrollados; esto se atribuyó al aislamiento de pacientes, la mejoría en el nivel económico de vida y a la disposición de vivienda más amplia que aminóron el hacinamiento y con ello el peligro de contagio.

En muchas áreas del mundo, el *Micobacterium Tuberculosis* continúa siendo la causa más común de derrame pleural, que ocurre en ausencia de infiltración parenquimatosa demostrable, y su cuadro -- clínico puede ser indistinguible de aquel causado por bacterias, neoplasias y enfermedades colágeno-vasculares.

A pesar de que los derrames pleurales siguen -- siendo un hallazgo común en la práctica neumológica, su etiología es oscura en un alto porcentaje de casos.

En años recientes varias pruebas bioquímicas -- han sido ensayadas para comprobar su valor diagnóstico, pero los resultados no han sido concluyentes. En este contexto, nosotros estudiamos la actividad de la Adenosín Deaminasa (ADA) en el líquido pleu-

ral (LP) y suero (S) de 43 pacientes con derrame -- pleural de diferentes etiologías.

Nuestros resultados mostraron un incremento im-- portante de la actividad de la enzima en el líquido pleural de pacientes con Tuberculosis en relación a las otras entidades nosológicas.

II.- ALGUNAS CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE LA- PLEURA Y LOS DERRAMES PLEURALES.

PLEURA.- La cavidad pleural es más frecuentemente - percibida por sus enfermedades, como es el derrame- pleural, que por sus funciones, principalmente por- qué es vulnerable y muestra alteraciones en muchas- enfermedades cardiopulmonares y sistémicas.

La cavidad pleural es un espacio virtual que es- tá presente entre la pleura visceral, la cual cubre la superficie entera del pulmón, incluyendo las ci- suras interlobares, y la pleura parietal, la cual - cubre la superficie interna de la caja torácica, me- diastino y diafragma.

Las cavidades pleurales derecha e izquierda es- tán completamente separadas en los humanos, aunque- pueden estar muy cerca, o aún adheridas una a otra- en la porción más caudal o baja del tórax, enfrente del corazón.

La apariencia gruesa de la superficie pleural -- normal es lisa, brillante y semitransparente. A tra- vés del microscopio de luz pueden observarse 5 ca- pas: 1) Una capa de células mesoteliales, 2) una del- gada capa de tejido conjuntivo, 3) una capa superfi- cial elástica, 4) una capa subpleural relativamente frágil y 5) una capa profunda fibroelástica. La --- cuarta capa es rica en vasos, nervios y linfáticos- y frecuentemente sirve como un punto de partida pa- ra la pleurectomía.

(3)

LIQUIDO PLEURAL.- En condiciones normales, una delgada capa de líquido, de aproximadamente 10 a 27 microlitros, está presente entre las pleuras visceral y parietal. En humanos, menos de 1 ml de líquido -- puede ser obtenido del espacio pleural de voluntarios sanos.

En animales de experimentación y humanos se pueden encontrar de 1500 a 4500 células en 1 microlitro de líquido pleural; 60-70% de estas células son monocitos. El número de macrófagos, linfocitos y células mesoteliales varía, pero los neutrófilos son raros.

El contenido proteínico de el líquido pleural -- normal es variado. El promedio es de 10-20 microgramos por microlitro.

La concentración de proteínas de alto peso molecular, como la DHL, es menos de la mitad de la que está presente en el suero en conejos normales.

TRANSPORTE DE LIQUIDO A TRAVES DE LA PLEURA.

Consideraciones Hidrostático-Osmóticas: La pleura parietal es irrigada por capilares de la circulación sistémica con una presión hidrostática (P_c) - de 30 cms de H₂O y una presión oncótica (π_c) de 34 cms de H₂O. Como la presión intrapleural (P_{pl}) es de -5 cms de H₂O y la presión oncótica pleural (π_{pl}) es de 5 cms de H₂O, acorde a la ley de Starling hay una presión neta para mover el líquido de la pleura parietal hacia el espacio pleural.

Por otro lado, muchos capilares de la pleura -- visceral en las superficie costal y diafragmáticas en humanos son de la circulación pulmonar con una presión hidrostática (P_c) de 11 cms de H₂O. Siguiendo la misma ley de Starling, hay una presión neta de 13 cms de H₂O que fuerzan al líquido en la

cavidad pleural a entrar a los capilares viscerales.

De acuerdo a estudios realizados en animales, aproximadamente 100 mls de líquido pleural son formados por hora por la pleura parietal; por la misma suposición, 300 mls de líquido pleural pueden ser absorbidos en el mismo lapso por la pleura visceral.

En este sentido, la cantidad de líquido que atraviesa el espacio pleural oscila entre 5000 y 10000-mls en 24 hrs.

DERRAMES PLEURALES.- Los derrames pleurales han sido clásicamente divididos en exudados y trasudados. Un trasudado ocurre cuando los factores sistémicos que influyen la formación o absorción de líquido pleural están alterados. Por ejemplo, una disminución en la presión coloidosmótica del plasma y una presión hidrostática elevada en la circulación pulmonar o sistémica son alteraciones que producen un trasudado. En estos casos, la superficie pleural no está comprometida por el proceso patológico primario.

En contraste, un exudado resulta de enfermedad de la superficie pleural o linfáticos. El mecanismo por el cual se produce acumulación de líquido es por un incremento en la permeabilidad de los capilares para las proteínas, como ocurre en el embolismo pulmonar, neumonía bacteriana, tuberculosis o implantación tumoral.

Clásicamente, un derrame pleural ha sido identificado como un exudado cuando el nivel de proteínas excede de 3.0 grs por 100 mls, o su gravedad específica está por arriba de 1,016.

Desafortunadamente, el uso de estos criterios resulta en una incorrecta clasificación del derrame en 10% de los pacientes. La razón para esto es que-

los trasudados de larga evolución pueden incrementar su concentración proteica por la absorción de líquido con exceso de proteínas y enmascararse como un exudado.

Subsecuentemente ha sido demostrado que la determinación simultánea de proteínas y DHL en líquido y suero efectivamente separa los exudados de los trasudados.

La separación del líquido pleural en trasudados y exudados no es de mucha utilidad para diagnosticar una etiología determinada; sin embargo, aproximadamente el 43% de los pacientes con exudado presentan una enfermedad maligna y 83% de aquellos con un trasudado tienen enfermedad congestiva.

ADENOSIN DEAMINASA.- La Adenosin Deaminasa (ADA), o adenosin aminohidrolasa, es una enzima que cataliza la desaminación hidrolítica de la adenosina para producir inosina, así como desoxiadenosina a desoxiinosina. La ADA es esencial para la diferenciación de células linfoides, particularmente las células T y juega un papel en la maduración de monocitos a macrófagos.

Una reducción de la actividad de la enzima en el hombre se asocia con un tipo de severa enfermedad de inmunodeficiencia combinada. La deficiencia de la actividad de la ADA en pacientes con función inmune alterada puede ser: a) una causa directa de la disfunción inmune, b) el resultado de una supresión genética la cual envuelve a un locus crítico de la respuesta inmune normal, o c) un reflejo de una aberración de la función celular, la cual resulta en una función inmune deprimida.

Alta actividad de la enzima en suero ha sido encontrada en Hepatitis viral, mononucleosis infeccio

sa, cirrosis hepática, fiebre tifoidea, y en algunas enfermedades donde interviene la respuesta inmune celular.

DISTRIBUCION TISULAR.- La actividad de la ADA está presente en todos los extractos de tejido humano. Las formas moleculares más grandes de ADA predominan en aquellos extractos de tejido con menor actividad enzimática, v. gr. pulmón o riñón, mientras que las pequeñas en lugares donde la actividad enzimática es mayor, v. gr. estómago o bazo.

OBJETIVO.- El objetivo del estudio fué el de comprobar la utilidad de la determinación de la ADA en el líquido pleural y suero para el diagnóstico diferencial de los derrames pleurales de origen tuberculoso.

III.- MATERIAL Y METODO.

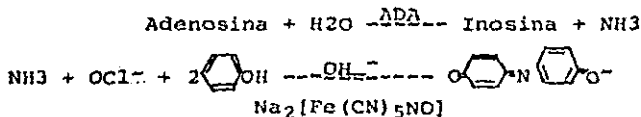
Nuestra serie consistió de 43 pacientes adultos admitidos a nuestro Instituto en un lapso de 9 meses, cuyas edades fluctuaron de 18 a 86 años, con una media de 52± 18; de estos 28 eran hombres y 15 mujeres. Fueron aceptados todos los pacientes con derrame pleural, con excepción de aquellos que presentaban empiema o hemo neumotórax traumático por razones obvias de diagnóstico.

El estudio fue hecho en forma transversal, prospectivo y a ciegas; ignorándose el diagnóstico al momento de tomar las muestras. La actividad de la enzima fué determinada simultáneamente en líquido pleural y suero por el método colorimétrico de Galanti y Giusti (5) que será descrito más adelante.

Así mismo, a todos los pacientes se les efectuó estudio rutinario de líquido pleural, (pH, glucosa DHL, densidad, celularidad). Por otra parte, a 38-pacientes (88.37%) se les hizo diferencial de leucocitos en líquido pleural.

Todos los diagnósticos finales fueron corroborados con los criterios que se muestran en la tabla-1. De los 12 pacientes con Cáncer, 5 tuvieron Adenocarcinoma, 3 Ca epidermoide, 1 Ca de células pequeñas, 1 leiomiomasarcoma metastásico, 1 Ca de células embrionarias y 1 Ca de células claras con primario desconocido.

MEDICIÓN DE LA ADA.- La reacción que permite conocer la actividad de la ADA es la siguiente:



El equilibrio de reacción es por mucho a la derecha; el amoníaco forma un intenso azul indofenol con hipoclorito de sodio y fenol en solución alcalina. El nitroprusiato de sodio es el catalizador. La concentración de amoníaco es directamente proporcional a la extinción del indofenol. La reacción es catalizada al final del período de incubación por la adición de la solución fenol-nitroprusiato, siendo determinada posteriormente en un espectrofotómetro con una densidad óptica de 620-650 nm (óptimo 628 nm).

Para el análisis de datos utilizamos los siguientes métodos estadísticos:

a) **ESPECIFICIDAD:** Son los resultados verdaderos negativos obtenidos cuando una prueba es aplicada a sujetos conocidos de estar libres de enfermedad.

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{VN}}{\text{VN} + \text{FP}}$$

Donde: VN= Verdaderos negativos. FP= Falsos positivos.

b) **SENSIBILIDAD:** Es la incidencia de resultados --

I . N . E . R .

DIAGNOSTICO Y CRITERIO DIAGNOSTICO DE LOS 43
PACIENTES ESTUDIADOS PARA LA ACTIVIDAD DE LA
ADA EN LIQUIDO PLEURAL Y SUERO.

DX.	No.	CRITERIO DX.
TB	15	Biopsia pleural mostrando grn nulomas con típicas células e piteloides. Cultivo positivo
CA	12	Examen citológico e histológico mostrando neoplasia maligna
Insuficiencia Renal	3	Cuadro clínico. Antecedentes. Azoados elevados. Baja concen- tración de proteínas en líqui- do pleural (30 gr./L.)
Cirrosis Hepática	3	Insuficiencia hepática. PFH alteradas. Biopsia de hígado. Baja concentración de proteí- nas en líquido pleural.
Insuficiencia Cardíaca	7	Cuadro clínico. Baja concen- tración de proteínas en líqui- do pleural
Misceláneos a) Artritis R.	1	Proteína C Reactiva +. Factor Reumatoide + en suero y líqui- do pleural. Necrosis fibrinoi- de en biopsia pleuropulmonar
b) Neumonía	1	Enfermedad febril aguda y res- puesta a la terapia antimicro- biana
c) Derrame pleural sec. a Absceso hepático amibiano.	1	Inicio incidioso. Gamagrama hepático positivo. Respuesta favorable a antiambianos

(8)

verdaderos positivos obtenidos cuando una prueba es aplicada a pacientes conocidos de tener la enfermedad.

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FN}}$$

Donde: VP= Verdaderos positivos. FN= Falsos negativos.

c) PORCENTAJE DE EFICIENCIA: Es el porcentaje de todos los resultados que son verdaderos, ya sean positivos o negativos.

$$\% \text{ Eficiencia} = \frac{\text{VP} + \text{VN}}{\text{Total}}$$

d) Curva característica de Operación: (Curva ROC):- Es de utilidad para observar, en su punto de inflexión, la mayor eficiencia de una prueba, cuando se han graficado la sensibilidad versus la especificidad.

e) Prueba "t" de Student: Prueba estadística para inferir la existencia de diferencias entre los promedios de un factor estudiado en dos grupos de experimentación. Todos los valores con una $p < 0.05$ se consideraron significativos.

IV.- RESULTADOS.

Se obtuvieron 6 grupos de pacientes de acuerdo al diagnóstico definitivo, tal como se muestra en la tabla 1. Las edades promedio no presentaron diferencias significativas. (tabla 2). Por otra parte, el cuadro clínico varió únicamente en los derrames pleurales secundarios a patología sistémica clara, (insuficiencia renal, cardíaca, cirrosis hepática); en cuanto a la tuberculosis y el cáncer el cuadro clínico casi siempre se presentó con los mismos síntomas y signos, (dolor pleurítico, disnea de esfuerzo, fiebre y pérdida de peso).

TABLA 2

TABLA DE EDADES SEGUN DIAGNOSTICO
FINAL.
(43 Pacientes)

DX. FINAL	EDAD
	X \pm DS
I.- TB	49.4 \pm 22
II.- Ca	49.2 \pm 18
III.- Cirrosis Hepática	52.3 \pm 7.5
IV.- Insuficiencia Renal	58.3 \pm 14.3
V.- Insuficiencia cardíaca	60.2 \pm 22
VI.- Misceláneos	58.3 \pm 12.3

Las características del líquido pleural, variaron en la cantidad de proteínas, así como en la densidad.

En el 88.37% de los casos se estudió la diferencial de leucocitos en el líquido pleural, encontrando en todos los casos, a excepción de uno, pre dominancia de linfocitos.

Para calcular el índice líquido pleural (LP)/suero (S) de la ADA, se midió la actividad de la enzima en ambos fluidos.

En suero la actividad de la ADA no mostró datos concluyentes, (Fig. 1), a excepción de los pacientes con cirrosis hepática, (70 ± 31 U/L 37°C), hallazgo que ha sido reportado por otros autores (5) los grupos restantes no mostraron diferencias significativas.

En cuanto a la actividad de la enzima en líquido pleural encontramos diferencias significativas en los pacientes con derrame pleural por TB en relación a los otros grupos. En derrame por TB la media fue de 109 ± 37 U/L a 37°C , y en los pacientes con derrame secundario a Ca 49 ± 61 U/L a 37°C . En este último grupo encontramos un valor excesivamente alto, (235 U/L a 37°C), En los otros 4 grupos las concentraciones de la enzima fueron muy bajas, (Fig. 2).

En cuanto al índice LP/S encontramos también in formación valiosa. Nuestros resultados mostraron un incremento de este índice en derrames pleurales de pacientes con TB y Ca, (3.4 ± 2.0 y 1.9 ± 1.3 , respectivamente), en relación con los otros grupos que mostraron índices entre 0.26 ± 0.15 y 0.8 ± 0.5 , ($p < 0.001$). (Fig. 3).

Aunque las diferencias entre los índices LP/S-- obtenidos en Tb y Ca no fueron pronunciados, sí --

FIGURA 1

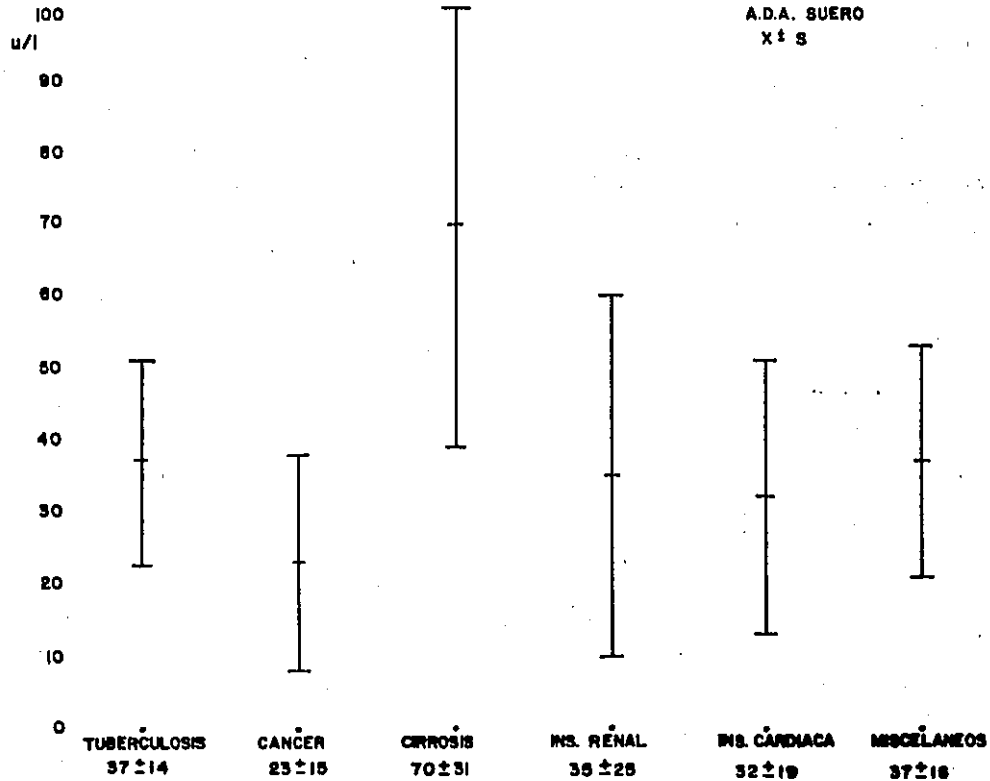


FIGURA 2

LIQUIDO PLEURAL A.D.A.

$\bar{x} \pm s$

200

u/l

150

100

50

0

TUBERCULOSIS

109 ± 37

CANCER

49 ± 61

CIRROSIS

21 ± 4

INS. RENAL

7 ± 3.6

INS. CARDIACA

7 ± 3

MISCELANEOS

29 ± 24

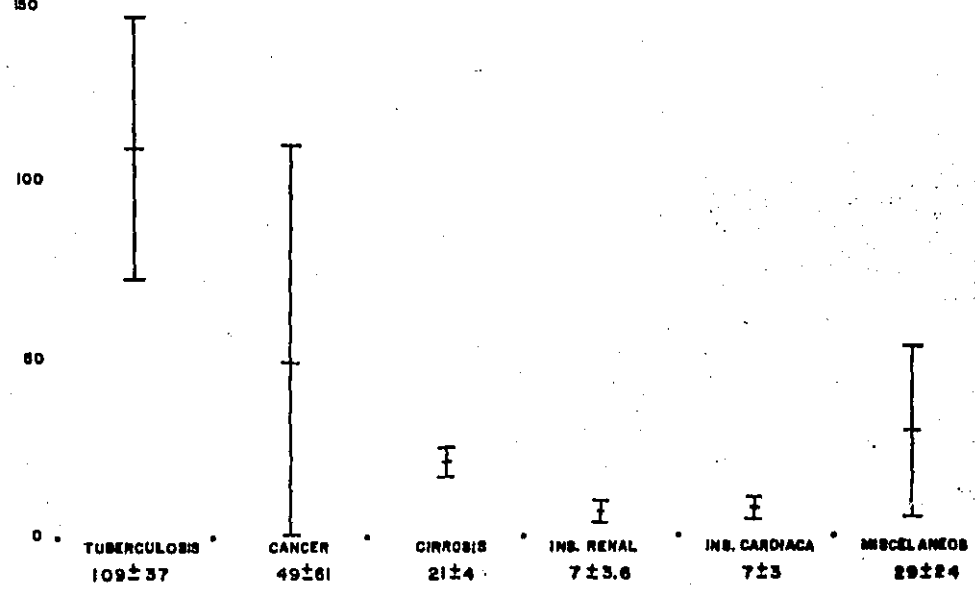


FIGURA 3

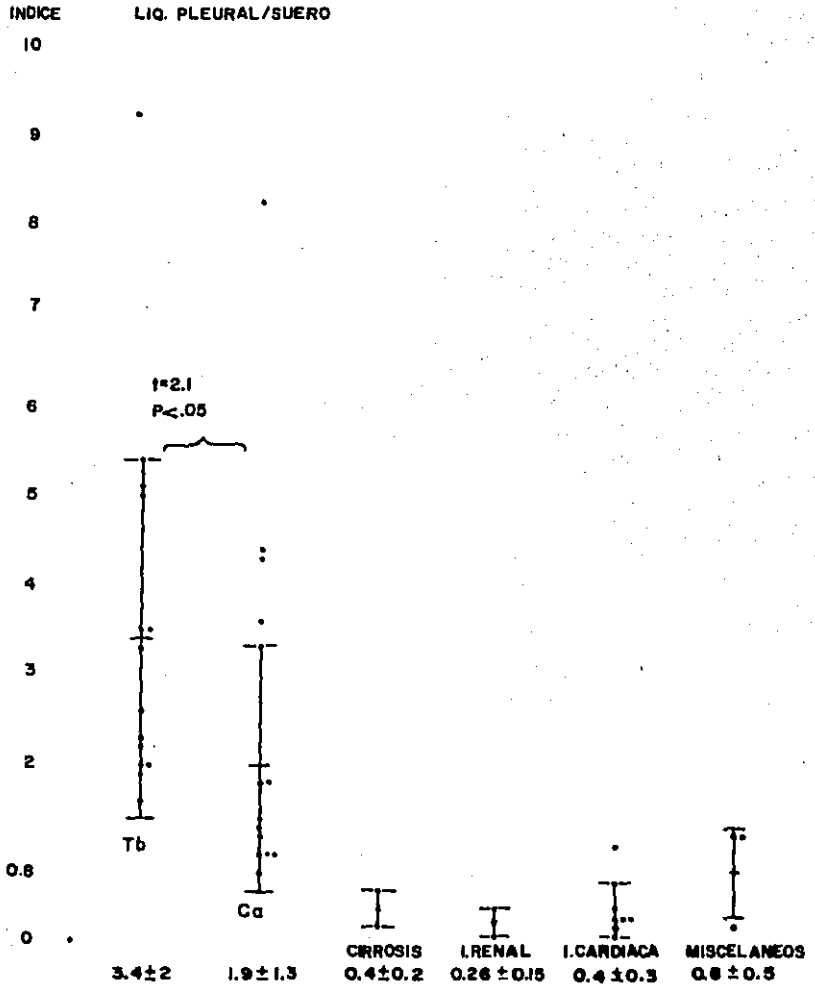
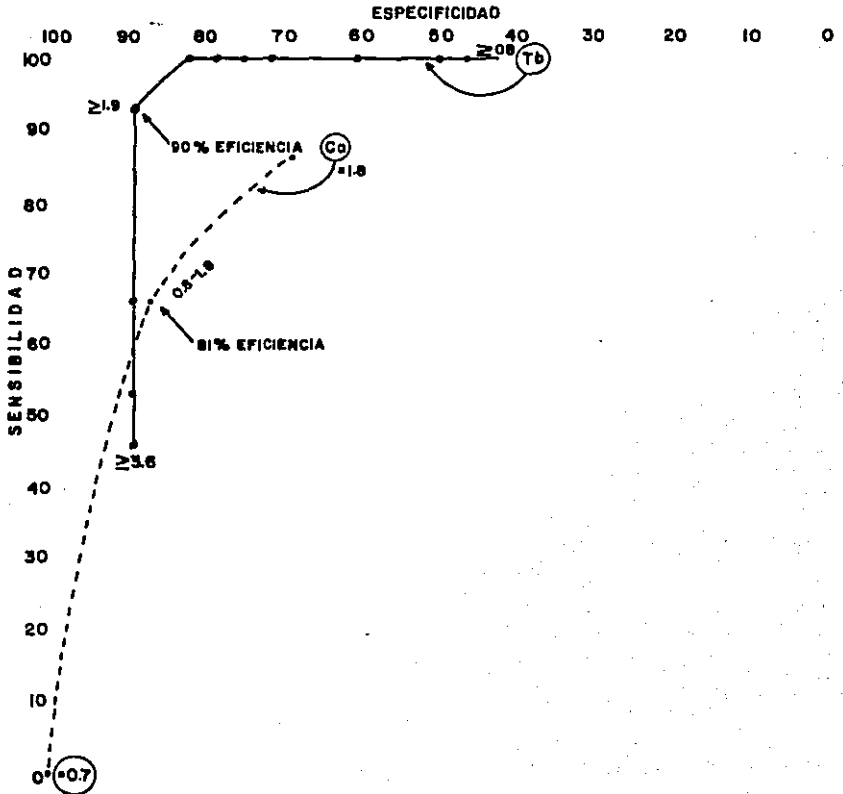


Figura 4

CURVA CARACTERISTICA DE OPERACION
(ROC)
INDICE A.D.A. LIQ. PLEURAL /A.D.A. SUERO
EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR
Y EN PACIENTES CON CANCER PULMONAR



mostraron diferencias estadísticamente significativas, ($p < 0.05$).

Para determinar el punto de más alta eficiencia estimamos la sensibilidad y especificidad del índice LP/S, y obtuvimos la curva característica de operación. Los resultados mostraron que, a un índice LP/S de 1.9 o mayor, la prueba tiene una eficiencia del 90.7% para el diagnóstico de Tb y, a un rango de 0.8 y 1.8 presenta una eficiencia del 81% para el diagnóstico de Ca. Este hallazgo sugiere que el índice LP/S puede ser de mayor utilidad para el diagnóstico diferencial, que la sola determinación de la ADA en líquido pleural.

V.- DISCUSION.

Desde 1972, la ADA comenzó a llamar la atención, cuando Giblet (15), reportó dos niños con inmunodeficiencia combinada, y que fue posteriormente confirmada por Van der Weyden, Mills y Simmonds (6, 8 y 9).

Posteriormente Giusti (5), realizó un estudio de pacientes con fiebre tifoidea, determinando los niveles de la enzima en suero, encontrando que estos eran significativamente altos, y que además constituía una prueba útil para el diagnóstico diferencial de la ictericia obstructiva.

En la práctica clínica diaria, son frecuentes los problemas para esclarecer la etiología del derrame pleural. A pesar de una cuidadosa evaluación clínica y de laboratorio, la etiología no se establece en el 20% de los casos.

Los cultivos del líquido pleural para detectar la presencia de Mycobacterium Tuberculosis son positivas en únicamente el 20-30% de los casos, y la

biopsia de pleura parietal muestra granulomas con típicas células epiteloides en solamente 50-80% de los casos. Así mismo, el PPD es positivo en el 60-70% de los pacientes con derrame pleural de origen tuberculoso.

En un estudio llevado a cabo en nuestro Instituto, el porcentaje de diagnóstico etiológico fue -- del 66%, a pesar de realizarse biopsias por tora--scopías. (16).

En este contexto, decidimos realizar este estudio, intentando encontrar una relación entre determinados valores de la ADA y un diagnóstico etiológico específico.

Nuestros resultados mostraron que los pacientes con derrame pleural de origen tuberculoso presentan niveles muy altos de la enzima en el líquido pleural, sin elevación importante en el suero. De esta manera, la relación LP/S estuvo significativamente incrementada en estos pacientes en comparación con las otras entidades nosológicas exploradas.

La diferencia menos notable, aunque estadísticamente significativa, se presentó con los pacientes con diferentes tipos de neoplasias, aunque es conveniente destacar que uno de estos casos tuvo un nivel muy alto de la enzima, (235 U/L a 37°C), lo que aumentó el promedio.

Sin embargo, con el objeto de afinar el valor diagnóstico de esta prueba, se estudió su sensibilidad y especificidad; con estos parámetros se estimó el punto de mayor eficiencia.

Nuestros resultados mostraron que un índice LP/S igual o superior a 1.9 tiene una eficiencia mayor del 90% para el diagnóstico de tuberculosis.

El motivo por el cual se incrementa esta enzima en los derrames de origen tuberculoso, es desconocido. No obstante, podría deberse a un aumento de los linfocitos T activados en el líquido pleural.

Este fenómeno ha sido explorado en otras enfermedades y se ha observado un aumento en la acción de la ADA in vivo, debido a estimulación antigénica, subrayando la importancia de esta enzima en la proliferación celular. En este sentido es probable que la ADA pueda ser un marcador importante en padecimientos mediados por hipersensibilidad celular.

VI.- CONCLUSIONES.

- 1.- La actividad de la ADA es un buen parámetro -- para el diagnóstico de los derrames pleurales de origen tuberculoso.
- 2.- La actividad de la ADA en trasudados siempre es baja.
- 3.- El índice líquido pleural/suero tiene una sensibilidad y una especificidad muy altas.
- 4.- El índice LP/S a un nivel de 1.9 o mayor tiene una eficiencia diagnóstica del 90,7% para tuberculosis.
- 5.- La determinación de la ADA es de bajo costo, - fácil de efectuar, y debiera realizarse si el diagnóstico de Tb es sospechado y en lugares - donde la prevalencia de esta enfermedad aún es alta.

BIBLIOGRAFIA.-

- 1.- Piras, M.A; Gakis, C; Budroni, M; Andreoni, G. Adenosine deaminase activity in pleural effusions: an aid to differential diagnosis. Br. - Med. J. 1978; 2 (6154): 1751-2.
- 2.- Ocaña, I; Martínez-Vázquez, J.M.; Segura, R.M. Fernández- De Sevilla, T.; Capdevilla, J.A.. - Adenosine Deaminase in Pleural Fluids. Test -- for diagnosis of Tuberculous pleural affusion. Chest, Vol. 84. No. 1, July, 1983. 51-53.
- 3.- Petterson, T; Kaarina, O; Weber, T.H. Adenosine Deaminase in the Diagnosis of pleural effusions. Act. Med. Scand. 1984; 215: 299-304.
- 4.- Niwa, Y.; Kishimoto, H.; Shimokata, K. Carcinomatous and Tuberculous Pleural Effusions. Comparison of Tumor Markers. Chest, 87, 3. March-1983. 351-55.
- 5.- Giusti, G. Adenosine Deaminase. In: Bergmeyer, H.U., ed. Methoden der enzymatischen Analyse. Weinheim: Verlag Chemie, 1970; 1049-56.
- 6.- Van der Weyden, M.B.; Buckley, R.H.; Kelley, - W.N. Molecular form of Adenosine Deaminase in severe combined immunodeficiency. Biochemical- and Biophysical Research Communications. Vol.- 57, No. 3, 1974. 590-95.
- 7.- Van der Weyden, M.B.; Kelley, W.N.. Adenosine-Deaminase. Distribution and properties. The -- Journal of Biological Chemistry. Vol. 251, No. 8, Sep. 1976, 5448-5456.
- 8.- Mills, G.C.; Schmaltieg, F.C.; Trimmer, K.B.; Goldman, A.S.; Goldbum, R.M. Purine metabolism in Adenosine Deaminase deficiency. Proc. Natl. Acad. Sci. Vol. 73, No. 8. 2867-2871. August,- 1976.

- 9.- Simmonds, H.A.; Panay, G.S.; Corrigan, V. ----
A rol for purine metabolism in the immune response: Adenosine Deaminase activity and deoxycatabolism. The Lancet. January, 1978. 60-63.
- 10.- Bates, J.H. Diagnosis of Tuberculosis. Chest. 76:6, Dec. 1979. Supplement. 757-61.
- 11.- Petterson, T.; Klockrams, M.; Hellström, P.H. Riska, H.; Wangel, M.D. T and B lymphocytes - in pleural effusions. Chest 73:1. January, -- 1978. 49-51.
- 12.- Tratamiento de la Tuberculosis. Actualización S.S.A., 1984.
- 13.- Lowell, J.R. Pleural effusions. University -- Park Press. 1977.
- 14.- DE Meester, T.R.; La Fontaine, E. The Pleura. In: Sabinston, D.C.; Spencer, F.C. Gibon's. - Surgery of the Chest. 4ta. Ed. Saunders Co. - 1983. 361-406.
- 15.- Giblett, E.R.; Anderson, J.E.; Cohen, F.; Pollar, B.; Meuwissen, H.J. Adenosine-deaminase deficiency in two patients with severely - impaired cellular immunity. Lancet, 1972;2 -- 1067-9.
- 16.- Alfaro, R. Tesis recepcional. I.N.E.R. 1984.
- 17.- Clinics in Chest Medicine. Simposium of Pleural diseases. Richard W. Light. M.D. Guest Editor. Vol. 6. No. 1. March 1985. W.B. Saun-- ders, Co.