

VALOR DIAGNÓSTICO DA ADENOSINA DEAMINASE, INTERLEUCINA-6 E PROTEÍNA C-REATIVA NAS EFUSÕES PLEURAIS

RESUMO

O diagnóstico das efusões pleurais permanece um desafio na prática clínica uma vez que suas etiologias podem ser muitas e variadas. A maior dificuldade está na diferenciação entre os exsudatos resultantes de tuberculose, carcinomas, linfomas, pleurite lúpica e pleurisia reumatóide. A adenosina deaminase (ADA) é um marcador bastante utilizado na identificação de efusões pleurais tuberculosas devido a sua elevada sensibilidade e especificidade, além do baixo custo e rapidez do resultado. A utilização rotineira das dosagens de citocinas e outros marcadores de atividade inflamatória como a proteína C-reativa (PCR), ainda depende de maiores observações. Nosso objetivo é verificar, nas efusões pleurais tuberculosas ou não tuberculosas, o desempenho diagnóstico da adenosina deaminase (ADA) e dos marcadores IL-6 e PCR. Setenta e três mostras de líquido pleural divididas em quatro Grupos (I- tuberculose; II- neoplasias; III: causas inflamatórias; IV: transudatos) foram submetidas às determinações de ADA, IL-6 e PCR. ADA foi determinada pelo método de coloração de Giusti; IL-6 foi determinada por técnica de ELISA e a PCR por nefelometria. As amostras do grupo I (n=10) apresentaram valores de ADA significativamente mais elevados que as dos demais grupos ($p=0,0001$) bem como, mostraram valores discriminantes para IL-6 em relação aos Grupos II e IV ($p=0,0001$). A PCR não apresentou valores estatisticamente discriminantes entre o grupo I e os demais ($p=0,083$). Na análise de Spearman, a IL-6 foi o único marcador a mostrar uma tendência de correlação com a ADA ($p=0,595$). Acuracidade diagnóstica da IL-6 mostrou sensibilidade e especificidade de 90% e 65%, respectivamente (IC 95%; $p=0,005$) para um valor de corte $\geq 2,63$ ng/ml. A ADA ainda apresenta melhor desempenho e baixo custo, a IL-6 mostrou bom desempenho, mas tem custo elevado e a

PCR não tem valor diagnóstico para essa abordagem.

INTRODUÇÃO

Efusões pleurais são o resultado da alteração entre a produção e a eliminação do líquido pleural. A redução do equilíbrio entre a força hidrostática e a pressão oncótica leva à formação dos transudatos, enquanto que os exsudatos são produto do aumento da permeabilidade capilar ou do bloqueio da circulação linfática^{1,2}.

Os derrames pleurais transudativos decorrem de doenças sistêmicas como insuficiência cardíaca congestiva, a principal causa dentre os transudatos³, a cirrose e síndrome nefrótica, enquanto que os derrames pleurais exsudativos são consequência de um acometimento direto do mesotélio como é o caso das neoplasias, processos infecciosos, citado como o maior causador de derrames pleurais exsudativos^{2,3}, lúpus eritematoso sistêmico e tuberculose pleural, entre outros. Na pleurite tuberculosa, que atinge cerca de 10% dos pacientes com tuberculose⁴, o derrame pleural observado resulta da migração de focos caseosos subpleurais do pulmão para o espaço pleural⁵.

Universalmente, a tuberculose, é o mais freqüente causador de morte, por um agente infeccioso⁵. Atualmente, um terço da população mundial está infectada com o bacilo da tuberculose. Entre os 22 países responsáveis por 80% dos casos de tuberculose no mundo, o Brasil é o único representante das Américas⁶ com aproximadamente 45 milhões de indivíduos infectados pelo *Mycobacterium tuberculosis* (foco primário), sendo que 5 a 10% desses contraem a tuberculose, e 6 mil/ano morrem da doença⁷.

A tuberculose pleural é caracterizada pelo aumento do número de células inflamatórias, entre elas linfócitos T, que levam à produção de inúmeras citocinas. Nas infecções bacterianas, o aparecimento de inflamação no espaço pleural, libera citocinas pró-inflamatórias que levam ao

influxo de células inflamatórias.

As citocinas são glicoproteínas pertencentes à família das hematopoiéticas, responsáveis pela produção, estimulação e diferenciação de múltiplos tipos celulares bem como pela produção de outras citocinas capazes de estimular ou de inibir a síntese de proteínas ou os efeitos biológicos de determinados tipos celulares ou de outras proteínas⁸. Sua secreção é induzida por estímulos específicos, tais como a presença de produtos bacterianos, o contato com superfícies estranhas ou a mutação de determinados grupos celulares. As citocinas pró-inflamatórias constituem um grupo de mediadores produzidos por fagócitos mononucleares, por leucócitos recrutados e pelas células mesoteliais, elas estimulam a resposta inflamatória inicial a microrganismos, que envolve o recrutamento e a ativação de neutrófilos e monócitos para o sítio de inflamação, indução de febre e da síntese de proteínas de fase aguda pelos hepatócitos, entre elas a proteína C reativa (PCR)

O diagnóstico das efusões pleurais permanece um desafio na prática clínica uma vez que suas etiologias podem ser muitas e variadas. Na efusão pleural linfocítica as causas podem incluir doenças como tuberculose, linfomas, carcinomas, etc ^{9,10} porém, o maior desafio está na diferenciação entre os exsudatos resultantes de tuberculose, carcinomas, linfomas, pleurite lúpica e pleurisia reumatóide. Na maioria dos casos, o diagnóstico final somente é estabelecido quando se obtém resultados positivos citológicos e/ou microbiológicos (bacterioscopias e culturas para bactérias). No entanto, existem algumas limitações para as práticas rotineiramente empregadas, a saber: a análise bacterioscópica pelo método de Ziehl-Nielsen (que identifica bacilos álcool-ácido resistentes) apresenta baixa sensibilidade enquanto que a cultura para o *M. tuberculosis* é mais sensível, porém, requer semanas para que se obtenha o diagnóstico. A biópsia pleural, por sua vez, apresenta altíssima sensibilidade, no entanto, é um procedimento bastante invasivo, de alto custo, sujeito a obtenção de amostra inadequada para o análise, levando, muitas vezes, a resultados falsos

negativos⁵.

Um método prático para se diagnosticar a causa do derrame pleural consiste na quantificação de marcadores biológicos presentes em concentrações elevadas nas doenças infecciosas, malignas e inflamatórias destacando-se entre eles a adenosina deaminase, citocinas inflamatórias, dentre elas a IL-6 e a proteína C reativa.

A adenosina deaminase (ADA), que catalisa a clivagem irreversível da adenosina em inosina e amônia, é uma enzima amplamente distribuída nos tecidos humanos, apresenta atividade aumentada nos leucócitos, especialmente nos linfócitos^{11,12}, e é de grande importância nos processos de diferenciação de linfócitos e de maturação dos monócitos^{13,14}. Segundo PIRAS et al¹⁵, a determinação de sua atividade em fluidos pleurais é de grande utilidade no diagnóstico da tuberculose.

A interleucina-6 (IL-6) é uma citocina multifuncional secretada tanto por células linfóides como por células não linfóides, e é responsável pela regulação funcional de células B e de células T, tendo um desempenho importante na ativação de proteínas de fase aguda¹⁶. Trata-se de uma citocina que pode induzir à proliferação de muitos tipos celulares¹⁷, e age nas células mesoteliais pleurais como um fator autócrino de crescimento¹⁸.

Clinicamente, utiliza-se os níveis de IL-6 nos fluidos corpóreos para determinar a atividade das doenças inflamatórias, bem como a localização do foco de infecção de pacientes complicados¹⁹. Dessa forma, níveis elevados de IL-6 são observados em derrames pleurais de pacientes com carcinoma pulmonar e mais acentuadamente na tuberculose pleural^{19,20,21,22}.

A proteína C-reativa é uma proteína de fase aguda, sintetizada pelo fígado e encontra-se aumentada em doenças pulmonares, nas infecções bacterianas, inflamações, neoplasias, etc sendo

capaz de diferenciar um transudato de um exsudato^{18,19,23} além disso, por estar significativamente aumentada nos derrames pleurais de causa inflamatória²³, pode ser um valioso marcador na discriminação entre pleurite tuberculosa e efusão pleural maligna²⁴.

Garcia- Pachon e Llorca²⁵ sugerem a aplicação da PCR como um marcador tumoral, na diferenciação de derrames pleurais neoplásicos, pois segundo esses autores, valores abaixo de 20mg/dl, apresentam sensibilidade de 50% e especificidade de 89% para classificar um derrame como maligno enquanto que valores acima de 45mg/dl, classificariam um derrame como benigno com sensibilidade de 44%, e especificidade de 95%. Adicionalmente, a medida da PCR é uma metodologia de fácil execução, rápida e de baixo custo podendo ser amplamente utilizada na prática clínica^{25,26}.

Em nosso meio, a dosagem de ADA é a mais utilizada na identificação de efusões pleurais tuberculosas devido a suas elevada sensibilidade e especificidade, além do baixo custo e rapidez do resultado^{5,27}. Concentrações elevadas de ADA nas efusões pleurais tuberculosas têm sido confirmadas por vários estudos^{28,29,30} que por sua vez, também observaram frequências relativamente elevadas de resultados falso-positivos.

Por se tratar de metodologias de custo mais elevado, a utilização rotineira das dosagens de interleucinas e proteína C-reativa como marcadores discriminantes no diagnóstico das efusões pleurais, ainda depende de maiores observações.

Este estudo tem por objetivo verificar, nas efusões pleurais tuberculosas ou não tuberculosas, o desempenho diagnóstico da adenosina deaminase (ADA) e dos marcadores biológicos IL-6 e proteína C-reativa bem como contribuir para o protocolo de investigação laboratorial das efusões pleurais permitindo um início precoce da terapia adequada e/ou condutas mais específicas além de reduzir os custos do tratamento e o tempo de internação.

MATERIAL E MÉTODOS

Material - Foram analisadas 73 amostras de líquido pleural, provenientes de pacientes internados em uma enfermaria de clínica médica de um hospital de Campinas, encaminhadas ao Laboratório de Líquidos Biológicos deste mesmo hospital, para análise citológica, bioquímica e/ou microbiológica, de acordo com a solicitação médica. Os dados dos pacientes foram coletados através de seus prontuários médicos, disponibilizados pelo Serviço de arquivo médico do hospital.

Metodologias - Cada amostra foi submetida aos seguintes procedimentos:

Análise citológica: contagem global e diferencial de leucócitos (Câmara de Newbauer e citocentrifugação das amostras com posterior coloração com corante hematológico de May-Grunwaldt).

Análise bioquímica - dosagens de proteínas totais (reação biureto), glicose (reação glicose-oxidase) e atividade de LDH (redução do lactato para piruvato, no teste de UV-otimizado, a 37°C).

Análise microbiológica - bacterioscopia (coloração de Gram e pesquisa de bacilos álcool-ácido-resistentes) e cultura para germes Gram positivos ou negativos e para Mycobacterium tuberculosis.

Determinação da atividade da ADA - método de coloração de Giusti¹¹ em amostras estocadas a -20°C por menos de 7 dias, no Laboratório de Líquidos Biológicos da Divisão de Patologia Clínica do hospital.

Após o processamento do material para os exames solicitados pelo médico, as amostras foram separadas em 3 alíquotas de 500ul e congeladas a -20°C para posterior processamento das seguintes análises:

Determinação das concentrações de IL-6 - realizada por técnica de ELISA no Laboratório de

Imunologia Celular e Molecular do hospital.

Determinação dos níveis de proteína C-reativa - realizada por nefelometria (equipamento BNII – Dade-Behring) no Serviço de Imunologia da Divisão de Patologia Clínica.

De acordo com o diagnóstico clínico-laboratorial, confirmado por técnica histológica e/ou bacteriológica, radiológica e clínica as amostras de líquido pleural foram divididas em quatro Grupos: Grupo I (n=10): portadores de tuberculose; Grupo II (n=24): portadores de neoplasias; Grupo III (n=19): exsudatos de origem inflamatória (parapneumônicos); Grupo IV (n=20): transudato.

Critérios de Inclusão: amostras de líquido pleural com predomínio celular linfocítico. Critérios de Exclusão: amostras de líquido pleural com predomínio celular constituído por polimorfonucleares e amostras repetidas de um mesmo paciente.

ANÁLISE ESTATÍSTICA - Foram utilizadas as seguintes metodologias estatísticas: análise descritiva (média, desvio padrão, mínimo, mediana e máximo) para as variáveis contínuas (ADA, IL-6 e PCR) e tabela de frequência para variável categórica (Grupos de I a IV); análise de variância, ANOVA e transformação Rank, para diminuir a assimetria e variabilidade dos dados na comparação dos marcadores e a variável ADA entre os grupos I a IV.

Para verificar a existência de associação linear entre os marcadores e a ADA foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman. Na determinação do ponto de corte nos marcadores IL-6 e PCR para discriminar os grupos I a IV adotamos a estimativa pela curva ROC. O nível de significância adotado foi de 5% ($p \leq 0,05$).

Os programas computacionais utilizados foram The SAS System for Windows, versão 8.02 1999-2001 e SPSS for Windows, versão 10.0.7, 1989-1999.

RESULTADOS

Dentre as amostras de derrame pleural analisadas, as do Grupo I (tuberculose pleural) apresentaram valores de ADA mais elevados que os outros grupos em estudo, com significância estatística ($p= 0,0001$). Nessa mesma análise o grupo II, que engloba os derrames pleurais de causa maligna (tumoral), apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo IV (transudatos) considerado grupo controle (Quadro 1).

Quadro 1. Estatísticas da variável ADA, por grupo

GRUPO	N	Média	D.P.	Mínimo	Mediana	Máximo

I	10	84.53	37.02	8.70	100.00	113.10
II	24	24.24	21.75	3.40	19.65	110.80
III	19	19.07	16.66	5.90	17.30	80.20
IV	20	11.76	9.45	3.00	10.80	47.20

Anova nos ranks, p-valor = 0.0001 (I $\neq$ II, III e IV)

(II $\neq$ IV)

A análise de IL-6, mostrou valores discriminantes ($p= 0,0001$) para os derrames pleurais com tuberculose quando comparada aos Grupos II e IV (neoplasias e transudatos, respectivamente).

Quanto ao Grupo III essa relação não pode ser demonstrada (vide desvio-padrão Quadro 2).

Quadro 2. Estatísticas da variável IL6, por grupo

GRUPO	N	Média	D.P.	Mínimo	Mediana	Máximo
I	10	22.78	23.77	1.13	15.28	73.34
II	24	4.38	4.60	0.53	1.99	14.02
III	19	9.86	9.70	0.52	3.38	29.71
IV	20	4.07	4.38	0.70	2.00	15.91

Anova nos ranks, p-valor = 0.0001 (I $\neq$ II e IV)

A PCR não apresentou valores diferenciais estatisticamente discriminantes entre o grupo 1 os demais grupos (p= 0,083) (Quadro 3).

Quadro 3. Estatísticas da variável PCR por grupo

GRUPO	N	Média	D.P.	Mínimo	Mediana	Máximo
I	10	23.70	31.20	0.48	5.32	82.25
II	24	4.97	8.53	0.24	2.27	37.75
III	19	6.86	9.54	1.01	4.00	37.90
IV	20	4.25	7.08	0.07	1.93	27.36

Anova nos ranks, p-valor = 0.0830

O Laboratório de Líquidos Biológicos da Divisão de Patologia Clínica deste hospital adota como valor de corte para a ADA 45U/L, o que significa que valores superiores ao valor acima referido indicam investigação obrigatória para tuberculose. Em nossa casuística, 12 amostras de

derrame pleural apresentaram valores de ADA superiores a 45U/L sendo que 8 dessas tiveram diagnóstico confirmado de tuberculose. Entre as outras quatro amostras havia um derrame de origem neoplásica, um transudato e duas efusões de causa parapneumônica.

Por outro lado, duas efusões que apresentavam valores de ADA <45U/L (8,7U/L e 28,5 U/L, respectivamente) foram incluídas no Grupo I (n=10) em função do diagnóstico clínico e do tratamento para tuberculose que os pacientes receberam.

Na análise dos coeficientes de correlação entre os marcadores, o único marcador que apresentou uma tendência a se correlacionar com a ADA na tarefa de diferenciar as efusões de causa tuberculosa foi a IL-6 (p=0,59514).

Para a construção da curva ROC foram considerados o Grupo I (10) como grupo em estudo e o Grupo IV (n=20) como grupo controle. Sendo assim, na análise da curva ROC para IL-6 (Intervalo de Confiança de 95% variando de 0,637 a 1,000; p=0,005), o valor de 2,6 ng/ml mostrou Sensibilidade de 90% e Especificidade de 65% para tuberculose. A análise da curva ROC para PCR (IC 95% variando de 0,537 a 0,923; p=0,043) mostrou que valores iguais ou superiores a 0,4470 mg/dl apresentam sensibilidade de 100% com especificidade de 35% para tuberculose por outro lado, valores iguais ou superiores a 28,39 mg/dl são altamente específicos (E=100%), porém com sensibilidade de 40%.

Numa análise paralela, considerando um valor corte de 4,3ng/ml, efetuamos uma análise sobre a Eficiência Diagnóstica da IL-6 envolvendo todos os pacientes estudados classificando-os em termos de presença ou ausência de tuberculose. Os resultados obtidos foram: Sensibilidade = 90%, Especificidade = 67%, Valor Preditivo Positivo = 30%; Valor Preditivo Negativo = 98%; Eficiência =70%.

DISCUSSÃO

Vários marcadores bioquímicos têm sido propostos para o diagnóstico da tuberculose nas efusões pleurais incluindo dosagem da adenosina deaminase, interferon- γ , interleucina-6, proteína C reativa e DNA do *Mycobacterium tuberculosis* obtido pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR). No entanto, ainda não se determinou quais desses marcadores são mais úteis para o diagnóstico da pleurite tuberculosa. A atividade da adenosina deaminase nas efusões pleurais tem demonstrado ser um valioso marcador bioquímico com elevadas sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da tuberculose³¹, mas sua utilidade diagnóstica depende da prevalência local da tuberculose, da metodologia laboratorial e da etnicidade da população³². De acordo com Light³³ valores diminuídos de ADA em asiáticos, poderiam comprometer a utilidade da detecção de tuberculose nessas populações. Um estudo de meta análise também observou que pesquisas envolvendo a ADA realizados na Europa, apresentaram melhor performance diagnóstica do que aquelas realizadas em outras regiões³⁴. No Japão³⁵ e em Singapura³⁶ os pesquisadores observaram melhores sensibilidade e especificidade da ADA para com a tuberculose do que aqueles realizados na Tailândia³⁷ e na Índia³⁸.

Um exsudato com predominância linfocitária, e com níveis elevados de ADA sugere fortemente tratar-se de uma pleurisia tuberculosa, enquanto que níveis inferiores aos valores de corte podem ser de origem neoplásica. Por outro lado, níveis elevados de ADA em derrames pleurais com predomínio de neutrófilos sugerem uma efusão pleural de causa parapneumônica, sendo mais indicativo de empiema³¹.

Na literatura, a utilização de valores de corte para a ADA entre 40 a 70 U/l, com sensibilidades que atingem até 100%, depende da prevalência de tuberculose na região estudada³⁹. Em nosso estudo, o valor de corte de 45U/l classificou corretamente todas as efusões pleurais

tuberculosas. Duas efusões incluídas nesse grupo (por critérios clínicos) posteriormente foram confirmadas como tendo outra causa que não a tuberculose, e como esperado nesses casos, os valores de ADA eram inferiores ao valor de corte.

Valores de ADA superiores ao valor de corte também podem ser observados em linfomas^{40,41}, artrite reumatóide^{41,42}, derrames parapneumônicos^{41,43,44}. Em nosso estudo, 4 amostras de origem não- tuberculosa apresentaram ADA>45 U/L, sendo duas delas de causa parapneumônica, uma decorrente de metástase de próstata e outra cujo valor alterado foi observado em transudato por cirrose .

Alguns estudos^{40,45} demonstraram que as neoplasias são a segunda maior causa de elevação (discreta a moderada) da ADA em efusões pleurais. O mesmo foi observado em nosso estudo onde valores de ADA entre os derrames neoplásicos apresentaram diferença significativamente estatística ($p<0,0001$) em relação ao grupo de transudatos.

Em relação a IL-6 há estudos demonstrando dificuldade em diferenciar estatisticamente a tuberculose de outras causas de derrames pleurais¹⁶, mesmo que com controles saudáveis¹⁷. No entanto, outros autores^{16,21,2} observaram diferença estatística significativa entre os derrames pleurais tuberculosos e as outras causas de derrames exsudativos. Em nosso estudo a IL-6 foi o único marcador que apresentou uma tendência a se correlacionar com a ADA na tarefa de diferenciar as efusões de causa tuberculosa. Valores acima de 2,64 ng/ml apresentaram sensibilidade de 90% e especificidade de 65% na diferenciação entre derrames tuberculosos e transudatos.

De acordo com Wong et al²¹ um valor de corte de 4ng/ml para IL-6 apresentou sensibilidade de 91% e especificidade 76% para identificação das efusões tuberculosas, valores esses semelhantes aos observados no nosso estudo quando adotamos valor de corte de 4,3ng/ml.

A produção de IL-6 ocorre no local da inflamação, podendo ser produzida por fibroblastos, células endoteliais, ou até mesmo por células tumorais²⁰, sendo útil para identificar o sítio da inflamação em pacientes complicados, assim como sugerido em alguns estudos^{19,20}. Wong et al²¹ mostraram uma associação entre os níveis de IL-6 e o número de dias de febre apresentados por pacientes com pleurisia tuberculosa após o início do tratamento, refletindo a inflamação em atividade no local²¹.

A proteína C-reativa é uma proteína polimérica não-glicolisada, constituída de cinco subunidades de 32kD unidas por ligações não covalentes, encontrada na circulação ou nos líquidos biológicos de pacientes com diversas doenças malignas ou inflamatórias. Pode ser utilizada como auxiliar na discriminação de exsudatos e transudatos^{2,3,26} Alexandrakis et al² utilizando valor de corte de 1mg/dl obtiveram sensibilidade e especificidade de 74%, para diferenciação entre transudatos de exsudatos.

A PCR tem se mostrado mais elevada nos derrames pleurais tuberculosos que nos neoplásicos^{23,24}. Turay et al²³, utilizando valor de corte de 30mg/l, com sensibilidade de 93,7% e especificidade de 76,5%, encontraram valores mais elevados nas efusões pleurais parapneumônicas, seguidos das de causa tuberculosa, enquanto que valores inferiores foram observados nos derrames transudativos e também nos neoplásicos.

Por outro lado, Garcia- Pachon et al⁷ mostraram que valores inferiores ao valor de corte (30 mg/dl), praticamente descartam a possibilidade de tuberculose como a causa de um derrame pleural linfocítico com sensibilidade e especificidade de 95% e 74%, respectivamente enquanto que para valores superiores a 45mg/dl a especificidade para tuberculose é de 92% com sensibilidade de 55%.

Em nosso estudo não houve significância estatística na diferenciação de derrames pleurais tuberculosos das outras causas de derrames, e para a diferenciação de derrames pleurais

tuberculosos dos transudatos, encontramos que para valores iguais ou superiores a 0,447 mg/dl a sensibilidade é de 100% e a especificidade de 65%, enquanto que para valores maiores ou iguais a 28,39 mg/dl a especificidade para efusão pleural tuberculosa seria de 100% porém, a sensibilidade é de apenas 40%. Ao aplicarmos este valor a todos os grupos de derrames exudativos (I, II, III), apenas duas efusões apresentam valores superiores a 28,39mg/dl: um derrame neoplásico por metástase pleural de câncer de mama (37,9 mg/dl) e outro um derrame pleural parapneumônico (37,8 mg/dl) mostrando portanto a baixa sensibilidade em diferenciar derrames tuberculosos das demais causas.

CONCLUSÃO

Nosso estudo confirma que a ADA continua sendo um bom parâmetro para o diagnóstico de tuberculose e que a IL-6, embora mostre bom desempenho, não apresenta uma maior eficiência diagnóstica. A ADA se aproxima do teste ideal para triagem de tuberculose nos derrames pleurais exsudativos linfocitários por ter baixo custo, ser minimamente invasivo e pela alta eficiência diagnóstica^{42,46}.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Kursowska, Anna K, Can inflammatory mediators affect fibrinolysis in the pleural space? The Biochemical Society 2003; 105, 541-543.
- 2) Alexandrakis, M; Coulocheri, SA; Bouros, D; et al Significance of Alpha-2-Macroglobulin, Alpha-1-glycoprotei, and C-Reactive Protein in pleural effusion differentiation; Respiration 2000, 67:30-35
- 3) Akarsu, S; Kurt, ANC; Dogan, Y; et al The differential diagnostic values of cytokine levels in pleural effusions; Mediators of inflammation, 2005, 1:2-8

- 4) Tarantino, Atualização Terapêutica, Derrame Pleural, Puc-Pr; disponível em http://www.pucpr.br/saude/laboratorios/pneumologia/trabalhos/derrame_pleural.doc, último acesso em 5 de abril de 2007.
- 5) Kaisemann M C, Kritski A L, Pereira M. F C, Trajman A., (2004) Pleural fluid adenosina deaminase detection for diagnosis of pleural tuberculosis; J. Bras. Pneumol. 2004; 30(6) 549-556.
- 6) STOP TB - Global TB database from World Health Organization (WHO); disponível em <http://www.stoptb.org/countries/default.asp>, último acesso em 25 de julho de 2007.
- 7) Tuberculose, Hospital Santa Lúcia; disponível em <http://www.santalucia.com.br/pneumologia/tuberculose.htm>, último acesso em 25 de julho de 2007.
- 8) Curfs JAHJ, Méis MGFJ, Hoogkamp-korstanje AA. A primer on cytokines: sources, receptors, effects and inducers. Clinical Microbiology Reviews, 742-780, 1997.
- 9) Light, RW; Yener, SEE; Wilmot Jr, CB; Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exsudates., Arch Intern. Med, 1972; 77, 507-13.
- 10) Nagajara, MV.; Ashokan, PK, Hande, HM- Adenosie deaminase in pleural effusion; J. A. P. I., 1992 , 40, 157-9.
- 11) Giusti, G - Adenosie deaminase. IN: Bergmeyer, H.U. (ed.)- Methods of enzymatic analysis, 2 ed., New Yofk, Academic Press, 1983, 315-23.
- 12) Giusti, G; Galanti, G Colorimetri Methods IN: Bergmeyer, H.U. (ed.)- Methods of enzymatic analysis, 3ed, New York, Academic Press, 1983 p. 315-23.

- 13) Carson, DA; Seegmiller, JE- Effect of adenosine deaminase inhibition upon human lymphocyte blastogenesis; J. Clin. Invest, 1976; 57, 274-82.
- 14) Hovit, R; Smith, JF; Allison, AC; Williams, SC- Role of adenosine deaminase in lymphocyte proliferation. Clin. Exp. Immunol.; 1976; 23, 395-403.
- 15) Piras, MA; Gakis, C; Budroni, M; Andreoni, G.- Adenosine deminase activity in pleural effusions: an aid to differential diagnosis. Br. Med., 1978; 1751-2.
- 16) Xirouchaki, N; Tzanakis, N; Bouros, D; Kyriakou, D et al.- Diagnostic Value of Interleukin-1 α , Interleukin-6 and Tumor necrosis factor in pleural effusions, 2002; Chest; 121(3), 815-20.
- 17) Hoheisel, G; Izbicki, G; Roth, M; et al - Compartmentalization of pro-inflammatory cytokines in tuberculous pleurisy; Respir Med. 1998 Jan;92(1):14-7.
- 18) Feng-Chi, L; Yi-Chu, C; Funn-Juh, C; et al- Cytokines and fibrinolytic enzymes in tuberculous and parapneumonic effusions; Clinical Immunology 2005; 116 : 166-73
- 19) YokoyAMA, a; Marayama , M; Ito, M; et al- Interleukin 6 activity in pleural effusion. Its diagnostic value and thrombopoietic activity; Chest 1992; 102: 1055-59
- 20) Pawel C; Bauer, K; Bitterlich, N.; Hui, DSC.; et al.- Differential diagnosis of pleural effusions by fuzzy-logic-based analysis of cytokines, 2004; Respiratory Medicine, 98, 308-317
- 21) Wong, C; Yew, W; Leung SK; Chan, C; et al.-Assay of pleural fluid interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma in the diagnosis and outcome correlation of tuberculous effusion; 2003, Respiratory Medicine, 97, 1289-95

- 22) Akarsu S, Kurt AN, Dogan Y, Yilmaz E, Godekmerdan A, Aygun AD. The differential diagnostic values of cytokine levels in pleural effusions. *Mediators Inflamm.* 2005 Feb;2005(1):2-8.
- 23) Turay, ÜY; Yldirim, Z; Türköz Y, Biber, Ç et al.- Use of pleural fluid C-reactive protein in diagnosis of pleural effusions, 2000; *Respiratory Medicine*, 94, 432-35.
- 24) Chierakul N; Kanitsap A; Chaiprasert A; Viriyatavekul R - A simple C-reactive protein measurement for the differentiation between tuberculous and malignant pleural effusion. *Respirology.* 2004 Mar;9(1):66-9.
- 25) Garcia-Pachon, E; Llorca, I; Diagnostic value of C-reactive protein in exudative pleural effusions. *European Journal of Internal Medicine* 2002; 13: 246-49.
- 26) Garcia-Pachon, E; Soler, MJ; Padilla-Navas, I; et al. C-Reactive Protein in lymphocytic pleural effusions: A diagnostic aid in tuberculous pleuritis. *Respiration* 2005; 72:486-89
- 27) Bottini PV; Cunha FAA.; Souza MI; Garlipp CR- Lymphocytic pleural effusions: diagnostic application of adenosine deaminase activity; *J. Bras Patol*; 32(4) 146-52.
- 28) Perez-Rodriguez E, Jimenez Castro D. The use of adenosine deaminase and adenosine deaminase isoenzymes in the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Curr Opin Pulm Med* 2000; 6:259–266
- 29) Chen ML, Yu WC, Lam CW, et al. Diagnostic value of pleural fluid adenosine deaminase activity in tuberculous pleurisy. *Clin Chim Acta* 2004; 341:101–107.
- 30) Goto M, Noguchi Y, Koyama H, et al. *Diagnostic College of American Pathologists.*

COMMISSION ON LABORATORY ACCREDITATION - Laboratory Accreditation Program, Hematology - Coagulation Checklist, 72 – 9, 2004.

- 31) Segura, RM. Useful clinical biological makers in diagnosis of pleural effusions in children. *Paediatric Respiratory Reviews*, 2004, 5 (Supl A): S205-12
- 32) Chen, ML; Yu, WC; Lam, CW; et al. Diagnostic value of pleural fluid adenosine deaminase activity in tuberculous pleurisy. *Clin Chim Acta*, 2004; 341 (1-2): 101-7
- 33) Light RW. *Pleural diseases*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins; 2001
- 34) Goto, M; Noguchi, Y; Koyama, H; et al. Diagnostic value of adenosine deaminase in tuberculous pleural effusion: a meta- analysis. *Ann Clin Biochem*, 2003 (Pt 4): 374-81
- 35) Aoki, Y; Katoh, O; Nakanishi, Y; et al. A comparison study of IFN- gamma, ADA and CA 125 as the diagnostic parameters in tuberculous pleuritis. *Respir Med*, 1994; 88: 139-43
- 36) Teo, SK; Chio, LF. Adenosine deaminase in pleural fluid- an enzymatic test for tuberculous pleural effusion. *Sing Med J*, 1987; 28: 220-4
- 37) Reechaipichitkul, W; Kawamatawong, T; Teerajetgul, Y; Patjamasoontorn, B. Diagnostic role of pleural fluid adenosine deaminase in tuberculous pleural effusion. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2001; 32: 383-9
- 38) Shama, SK; Suresh, V; Mohan, A; Kaur, P; et al. A prospective study of sensitivity and specificity of adenosine deaminase estimation in the diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Indian J. Chest Dis Allied Sci*, 2001; 43: 149-55

- 39) Lesley, JB; Frans, JM; Le Rouwx IL; Taljaard JJF. Use of adenosine deaminase as a diagnostic tool for tuberculous pleurisy. *Thorax*, 1995; 50:672-74
- 40) Gary Lee, YC; Borges, JT; Rodrigues, RM; et . al. Adenosine deaminase levels in nontuberculous lymphocytic pleural effusions. *Chest*, 2001. 120 (2): 356-61
- 41) Segura, R. M; Pascual C, Ocaña I et al. Adenosine deaminase in body fluids: a useful diagnostic tool in tuberculosis. *Clin Biochem*, 1989; 22: 141-48.
- 42) Söderblom, T; Nyberg P; Teppo, AM; et al. Pleural fluid interferon-gama and tumour necrosis factor- alfa in tuberculous and rheumatoid pleurisy. *Eur Respir J*, 1996; 9: 1652-55.
- 43) Valdés, L; Álvarez, D; San José, E; et al. Value of a adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusions in young patients ina region of high prevalence of tuberculosis. *Thorax*, 1995; 50: 600-3
- 44) Riantawan P, Chaowqlit P, Wongsangiem M et al. Diagnostic value of pleural fluid adenosine deaminase in tuberculous pleuritis with refernce to HIV coinfection and a Bayesian analysis. *Chest* 1999; 116: 97-103
- 45) Baganha, MF; Pêgo, A; Lima, MA; Serum and Pleural adenosine deaminase correlation with lymphocitic populations. *Chest*, 1990; 97 (3): 605-10
- 46) Diacon, AH; Van de Wal, C; Wyser, C; et al. Diagnostic tools in tuberculous pleurisy: a direct comparative study. *Eur Respir J*, 2003, 22: 589-91