

11. Villena V, López Encuentra A, Echave-Sustaeta J, Álvarez M C, Escribano M. Estudio prospectivo de 1 000 pacientes consecutivos con derrame pleural. Etiología del derrame y características de los pacientes. Arch Bronconeumol. 2002;38:21-26.
12. McGrath E, Anderson P B. Diagnosis of pleural effusion: A systematic approach. Am J Crit Care. 2011;20:119-128.
13. Alemán C, Sánchez L, Alegre E, Ruiz A, Vázquez T, Soriano J, et al. Differentiating between malignant and idiopathic pleural effusions: The value of diagnostic procedures. Q J Med. 2007;100:351-359.
14. Villena V, López-Encuentra A, García-Lujan R, Echave-Sustaeta J, Álvarez Martínez CJ. Clinical implications of appearance of pleural fluid at thoracentesis. Chest. 2004;125:156-159.
15. Fuentes Z, Garrido L. Tuberculosis pleural: Estudio epidemiológico, clínico y radiológico de 109 casos. Bol SVM. 2000;20:108-112.
16. Bueno CE, Clemente MG. Cytologic and bacteriologic analysis of fluid and pleural biopsy specimens with Cope's needle. Arch Intern Med. 1990;150:1190-1194.
17. Somnath B, Tapan BD, Anirban D, Abhijit M, Sibes D. Closed Pleural Biopsy is still useful in the evaluation of malignant pleural effusion. J Lab Physicians. 2012;4:31-38.
18. Rodríguez PS, Rivera ZM, Suárez BL, Correa MF, Rabucha A, Suárez C, Villarroel A. Tuberculosis pleural. Utilidad de la reacción en cadena de la polimerasa en muestras de tejido. Gac Méd Caracas. 2009;117:231-242.
19. Hernández A F, Ayala ON, Rivera B M. Efusión pleural maligna: Estudio histopatológico de 75 casos consecutivos con correlación clínica e histológica. Gac Méd Caracas. 2001;109(4):514-525.
20. Berkman N, Kramer MR. Diagnostic tests in pleural effusion - an update. Postgrad Med J. 1993;69:12-18.
21. Bravo MO, De Sousa ME, Oviedo AN, Garrido LM. Derrame pleural maligno: utilidad diagnóstica del estudio morfológico e inmunocitoquímico del bloque celular. Rev Fac Med. 2002;25(2):163-172.
22. Spriggs AJ, Boddington MM. Absence of mesothelial cells from tuberculous pleural effusions. Thorax. 1960;15:169-

#### **Agradecimientos**

A la Dra. Claudia de Suárez y a la HT Lic. Ayarit Villarroel P. de Briceño por su colaboración en el procesamiento y diagnóstico del material de biopsias pleurales.

Al Dr. José Avilán Rovira por su invaluable asesoramiento y orientación para la realización de este trabajo.

---

Gac Méd Caracas 2013;121(2):149-155

## Estabilidad de la adenosina deaminasa en diferentes medios de transporte del líquido pleural

Dras. Liliana Elizabeth Suárez Blandenier\*, Andreina A. Brito\*\*, Liz Mariela Canchica\*\*

\*Médico Internista. Adjunto al Servicio de Medicina Interna del Hospital General del Este "Dr. Domingo Luciani" El Llanito, Caracas. \*\* Médicos Residentes del Posgrado Universitario de Medicina Interna. Hospital General del Este "Dr. Domingo Luciani" el Llanito, Caracas.

Autor responsable:

Dra. Liliana Suárez Blandenier

E-mail: lilianabland@gmail.com

**RESUMEN**

*La determinación de los niveles de la adenosina deaminasa en el líquido pleural es sensible y específica para la tuberculosis pleural. La adenosina deaminasa en el líquido pleural disminuye con el tiempo a temperatura ambiente. El objetivo de este estudio es demostrar si existe diferencia en los valores de la adenosina deaminasa en líquidos pleurales en cuatro medios diferentes de transporte (hielo, citrato de sodio, heparina y ninguna sustancia química añadida). Se determinaron los niveles de la enzima en ochenta y ocho (88) muestras de líquido pleural procedentes de 22 pacientes con derrames pleurales no diagnosticados. Se demostró la concordancia diagnóstica entre los diferentes medios de transporte. No se demostró diferencia significativa entre los niveles de la adenosina deaminasa en cada uno de los diferentes medios de transporte hasta dos (2) horas posterior a su recolección. Se recomienda enviar las muestras de líquido pleural con el conservativo adecuado o con ácido etileno diamino tetracético de rutina en nuestro país.*

*Palabras clave: Adenosina deaminasa. Transporte. Derrame pleural. Líquido pleural.*

**SUMMARY**

*The determination of the levels of adenosine deaminase in pleural fluid is sensitive and specific for pleural tuberculosis. Adenosine deaminase in pleural fluid decreases over time at room temperature. The objective of this study is to demonstrate if there is difference on the average values of adenosine deaminase in pleural fluids in four different means of transport (ice, sodium citrate, heparin and no added chemical substance). The levels of the enzyme in eighty-eight (88) pleural fluid samples from 22 patients with undiagnosed pleural effusions were determined. We demonstrated diagnostic concordance between the different modes of transport. No significant difference is between the levels of adenosine deaminase in each of the different means of transport up to two (2) hours after collection. It is recommended to send by routine in our country samples of pleural fluid with the right conservative or Acid etileno diamino tetracetic.*

*Key words: Adenosine deaminase. Transportation. Pleural effusion. Pleural fluid.*

**INTRODUCCIÓN**

La tuberculosis pleural (TP) es una de las manifestaciones más comunes de la tuberculosis extrapulmonar y la causa más frecuente de derrame pleural (DP) en muchos países. Los test convencionales para el diagnóstico de la TP, son: el análisis microscópico para evidenciar la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes (coloración de Zielh-Neelsen) en el líquido pleural (LP) tejido o esputo, 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 test. Debido a dichas limitaciones, se han ensayado y evaluado nuevos métodos para el diagnóstico de la TP. Entre estas pruebas diagnósticas, como marcador inespecífico de la respuesta inflamatoria e inmunológica, se encuentra la determinación de la actividad de la adenosina deaminasa (ADA) en el LP, la cual es sensible y específica como marcador de TP (1).

La ADA es una enzima polimórfica del catabolismo de las purinas que cataliza la desaminación de adenosina y 2'-deoxyadenosina para producir inosina y 2'-deoxy-inosina respectivamente, liberándose amonio en el proceso. Esta enzima está ampliamente distribuida en el organismo, encontrándose su actividad prácticamente en todos los tejidos, especialmente en las células linfoides, siendo más elevada en las células T que en las células B. Existen tres isoformas de la enzima (ADA1, ADA2 y ecto-ADA). La ADA-1, es una proteína que está presente en todos los tejidos y es de gran importancia en el desarrollo y proliferación de los linfocitos. La ADA-2 es la isoforma predominante en suero, se encuentra solo en monocitos y macrófagos y es liberada por estas células cuando son estimuladas por la presencia de microorganismos. Aunque las ADA1 y ADA2 son exclusivamente citosólicas, la tercera isoforma es considerada una ectoenzima (ecto-ADA) puesto que se ha detectado en la superficie de células B, macrófagos y células T de sangre periférica (2).

En un metanálisis reciente, se analizaron 25 estudios desde 1987 a 2005 acerca de la utilidad de la ADA para el diagnóstico de la TP. Los valores de sensibilidad variaron de 68,8 a 100,0 % con una media de 91,8 % (95,0 % CI: 89,8 %-93,6 %) y la especificidad varió de 75,8 % a 96,9 % con una media de 88,4 % (95,0% CI: 86,0 %-90,5 %) (3).

Otros estudios también han demostrado su eficacia diagnóstica para la TP (4-6).

Como se mencionó anteriormente, un valor elevado de ADA en el LP puede contribuir al diagnóstico de TP, con la salvedad de que puede estar elevada en linfomas, enfermedad reumatoidea y tumores malignos y otros DP linfocíticos (7).

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<sup>(8)</sup>.

Además de las diferentes metodologías para el procesamiento para determinar los niveles de ADA en los LP, en diferentes regiones, otros autores llaman la atención acerca de las alteraciones de los niveles de ADA en LP cuando permanecen a temperatura ambiente, los cuales van disminuyendo a medida que transcurre el tiempo (9, 10). Este aspecto resulta muy importante a la hora de determinar el punto de corte de ADA para el diagnóstico de TP. De hecho como se mencionó anteriormente, muchos trabajos han recomendado que cada región tenga su propio punto de corte para ADA en LP y por tanto, para establecer el diagnóstico de TP (11-13).

El objetivo de este estudio es demostrar si existe diferencia en los valores de la ADA, determinada en muestras de LP en cuatro medios de transporte con diferentes características físico-químicas.

**Criterios de inclusión.** Se incluyeron las muestras de LP de pacientes con DP uni y/o bilateral no diagnosticados, de todo género, en edades comprendidas entre los 12 y 90 años de edad.

**Aspecto ético:** A cada paciente, previo consentimiento informado, se le llenó un formato de recolección con los datos pertinentes a la investigación y de su historia clínica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se determinaron los niveles de ADA en ochenta y ocho (88) muestras de LP procedentes de 22 pacientes con DP uni y/o bilateral no diagnosticados que acudieron al Servicio de Medicina Interna del Hospital General del Este "Domingo Luciani".

Las muestras de LP (8 a 10 cm<sup>3</sup>) tomadas en cada paciente mediante toracocentesis, se distribuyeron equitativamente en cuatro (4) tubos de ensayo, con diferentes condiciones: físico (hielo)-químicas (citrato de sodio, heparina) y sin ninguna sustancia química. El material se clasificó en cuatro grupos de cada paciente:

1. Muestra transportada sin sustancia añadida
2. Muestra con conservativo químico (citrato de sodio)

3. Muestra con heparina.
4. Muestra conservada en hielo sin sustancias químicas añadidas.

La determinación de la ADA en las 88 muestras se realizó por el método de Giusti y Gallanti (14).

## Análisis estadístico

Los datos se tabularon bajo Excel 2007<sup>®</sup> para Windows 7<sup>®</sup>, para ser procesados con GraphPad<sup>®</sup> v.3.0 y SPSS<sup>®</sup> 17,0. Las variables cuantitativas fueron resumidas como medias con sus desviaciones estándar ( $\pm$ DE). Las variables cualitativas se resumieron como proporciones (%). La comparación de las proporciones se realizó con la prueba de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ). La comparación de valores cuantitativos se realizó con las pruebas no paramétricas de Friedman y W de Kendall para comparación de *k* muestras relacionadas o pareadas. La concordancia diagnóstica se evaluó al cruzar los datos usando tablas de contingencia y posteriormente midiendo la concordancia con la prueba de Kappa ( $\kappa$ ), en la cual, de acuerdo a los criterios de Landis y Koch, valores de  $\kappa \leq 0,4$  corresponden con una concordancia baja o pobre; de  $\kappa = 0,4-0,7$ , con una buena concordancia; y de  $\kappa \geq 0,7$ , con una concordancia excelente. Todos los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de confianza de 95 %, considerándose P significativa  $< 0,05$ .

## RESULTADOS

Se evaluó un total de 22 pacientes con DP unilateral y/o bilateral no diagnosticado, entre junio y septiembre 2009, a los cuales se les realizó toracocentesis y se obtuvo 4 muestras de cada uno, realizándose 88 mediciones de ADA.

Las muestras fueron procesadas bajo cuatro condiciones físico-químicas de transporte diferentes. En el Cuadro 1 y Figura 1, se presentan los resultados de los valores de los niveles de la ADA (u/L) para cada uno de ellos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los medios.

Dado que el total de muestras evaluadas fue limitado, se procedió a evaluar cualitativamente si las muestras tenían suficiente concordancia diagnóstica entre sí, categorizándolas con el punto de corte ( $\geq 40$  u/L) de ADA. Cuadro 2. Se demostró que todas las pruebas diagnosticadas como positivas (al menos el 41,0 % de las muestras), no mostraron diferencias significativas entre ellas ( $P > 0,05$ ).

## ESTABILIDAD DE LA EDENOSINA DEAMINASA

Cuadro 1

Valores de ADA ( $\mu\text{L}$ ) en cada uno de los medios de transporte

Medio de transporte	n	Media	$\pm\text{DE}$	Rango	
				Mínimo	Máximo
Sin sustancia añadida	22	37,4768	27,57762	2,24	81,00
Con citrato de sodio	22	41,5527	35,19638	1,00	133,00
Con heparina	22	39,7759	39,24074	1,00	128,00
Con hielo	22	38,6505	32,38313	1,00	103,00

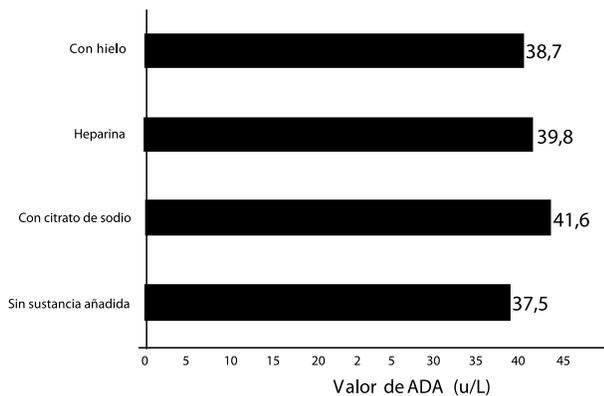


Figura 1. Valores de ADA ( $\mu\text{L}$ ) en cada uno de los medios de transporte.

Al analizar la concordancia de esos diagnósticos se encontró que entre todos los medios de transporte hubo una alta concordancia, significativa en todos los casos ( $P < 0,001$ ), excelente de acuerdo a los criterios de Landis y Koch,  $\kappa \geq 0,7$ . Cuadros 3, 4, 5, 6, 7 y 8.

Las concordancias más altas ( $\kappa > 0,9$ ) se encontraron entre el medio con hielo y sin heparina donde la coincidencia o concordancia en dar la prueba como positiva o negativa y ambos a la vez, se observó en 95,5 % de los casos ( $\kappa = 0,908$ ;  $P < 0,001$ ). Cuadros 3 y 9. De la misma manera entre los medios con hielo y con citrato de sodio, donde la coincidencia o concordancia, en dar como positiva o negativa la prueba o ambos a la vez, se observó en el 95,5 % de los casos ( $\kappa = 0,909$ ;  $P < 0,001$ ). Cuadros 8 y 9.

### DISCUSIÓN

La ADA es una prueba que ha demostrado eficacia para el diagnóstico de la TP. Sin embargo, como

Cuadro 2

Diagnóstico de acuerdo al punto de corte de ADA ( $\geq 40 \mu\text{L}$ )

Medio de transporte	Diagnóstico con punto de corte ADA $\geq 40 \mu\text{L}$			
	Positivo		Negativo	
	n	%	n	%
Sin sustancia añadida	9	40,9	13	59,1
Con citrato de sodio	11	50,0	11	50,0
Con heparina	10	45,5	12	54,5
Con hielo	10	45,5	12	54,5

Cuadro 3

Concordancia diagnóstica entre el transporte con hielo y sin heparina

Diagnóstico con hielo	Diagnóstico sin heparina		
	Negativo (<40)	Positivo ( $\geq 40$ )	Total
Negativo (<40)	12	0	12
Positivo ( $\geq 40$ )	1	9	10
Total	13	9	22

$\kappa = 0,908$ ;  $P < 0,001$ .

toda enzima, requiere de ciertas condiciones para su conservación en los medios donde se determinan sus niveles, especialmente importantes para el diagnóstico de ciertas enfermedades como la TP. La determinación de la ADA en los pacientes con DP unilateral y/o bilateral de diferente etiología es importante dado que el empleo de este método es de muy fácil acceso, de rápida determinación y sencillo al momento de su realización en comparación con otros métodos actualmente empleados.

Cuadro 4

Concordancia diagnóstica entre el transporte con citrato de sodio sin heparina

Diagnóstico con citrato de sodio	Diagnóstico sin heparina		Total
	Negativo (<40)	Positivo (≥40)	
Negativo (<40)	11	0	11
Positivo (≥40)	2	9	11
Total	13	9	22

 $\kappa = 0,818$ ;  $P < 0,001$ .

Cuadro 5

Concordancia entre el transporte con heparina y sin heparina

Diagnóstico	Diagnóstico sin heparina		Total
	Negativo (<40)	Positivo (≥40)	
Negativo (<40)	11	1	12
Positivo (≥40)	2	8	10
Total	13	9	22

 $\kappa = 0,723$ ;  $P < 0,001$ .

Cuadro 6

Concordancia diagnóstica entre el transporte con hielo y con heparina

Diagnóstico con hielo	Diagnóstico con heparina		Total
	Negativo (<40)	Positivo (≥40)	
Negativo (<40)	11	1	12
Positivo (≥40)	1	9	10
Total	12	10	22

 $\kappa = 0,817$ ;  $P < 0,001$ .

Cuadro 7

Concordancia diagnóstica entre el transporte con citrato de sodio y con heparina

Diagnóstico con citrato de sodio	Diagnóstico con heparina		Total
	Negativo (<40)	Positivo (≥40)	
Negativo (<40)	10	1	11
Positivo (≥40)	2	9	11
Total	12	10	22

 $\kappa = 0,727$ ;  $P < 0,001$ .

Cuadro 8

Concordancia diagnóstica entre el transporte con citrato de sodio y con hielo

Diagnóstico con hielo	Diagnóstico con citrato de sodio		Total
	Negativo (<40)	Positivo (≥40)	
Negativo (<40)	11	1	12
Positivo (≥40)	0	10	10
Total	11	11	22

 $\kappa = 0,909$ ;  $P < 0,001$ .

Cuadro 9

Matriz de concordancias diagnósticas entre todos los medios de transporte

Valores de concordancia Kappa ( $\kappa$ )*				
Medio de transporte	Sin sustancia añadida	Con citrato de sodio	Heparina	Con hielo
Sin sustancia añadida	-	0,818	0,723	0,908
Con citrato de sodio	0,818	-	0,727	0,909
Heparina	0,723	0,727	-	0,817
Con hielo	0,908	0,909	0,817	-

 $P < 0,001$ .

El escaso número de investigaciones en cuanto al transporte de la muestra de LP más adecuado para la determinación de la ADA al momento de su

recolección y el observar que dicho transporte se realiza de rutina en nuestro hospital sin sustancia añadida y/o con heparina, durante nuestro ejercicio

clínico, fue la causa que nos condujo a la realización de este estudio.

En general es conocido que la fijación y conservación de las muestras biológicas bien sea de líquidos corporales o de tejidos, es un requerimiento básico para los procedimientos de diagnóstico, especialmente para los de observación de la morfología celular y tisular, así como para la medición de determinados elementos productos de la elaboración celular, etc. El presente estudio compara los métodos tradicionales para la conservación y traslado de LPs para determinación del ADA, con otros medios aceptados en recientes estudios (15).

Se ha demostrado que desafortunadamente, cuando la ADA permanece a temperatura ambiente, decaen sus niveles. Posterior a dos semanas, la ADA desciende en un 80,0 % de su nivel original. Es por ello, es necesario e importante que la muestra de LP sea enviada al laboratorio sobre hielo u otro material frío.

Por otra parte ciertas sustancias poseen la propiedad de estabilizar la estructura proteica de la ADA. Estas sustancias incluyen aniones divalentes y trivalentes (sulfato y citratos al 0,05 mol/L y 0,10 mol/L respectivamente), azúcares y otros polioles (sucrosa, maltosa, glicerol, etilen glicol y sorbitol a concentraciones mayores del 20,0 %), cationes divalentes, etc. Estos aditivos que estabilizan proteínas se conocen desde la década del cuarenta, cuando se comenzaron a utilizar, siendo que el glicerol y el sulfato, son ampliamente utilizados para ese fin. Miller y col., demostraron que una mezcla de glicerol y etilen glicol o glicerol más sulfato de sodio en el LP, estabiliza la ADA, tanto la ADA-1 como la ADA-2, y las mantienen hasta por 3 semanas a temperatura ambiente o por encima de 37 °C. Sin embargo, la estabilidad de la ADA depende de la concentración de estas sustancias, ya que concentraciones elevadas, desnaturalizan la proteína. Estos autores también demostraron que la ADA desciende sus niveles a un 80,0 % en una hora a temperaturas de 45 °C sin conservativos. Por estas razones, señalan que en EE.UU, ya se cuenta con tubos preelaborados con una mezcla de una solución de glicerol más sulfato de sodio, los cuales se utilizan de rutina para el transporte de la ADA en LP. Estos investigadores concluyen que no es necesario enviar las muestras de LP para la determinación de niveles de ADA en hielo, ya que demostraron que la enzima se estabiliza con la utilización de los conservativos mencionados. Estos resultados representan unos aspectos muy importantes, especialmente aplicados en los países

en vías de desarrollo, de moderada a alta prevalencia de TP, donde el empleo de la ADA como método de diagnóstico es importante. Con el agravante de que en estas regiones no se cuenta con recursos para el envío de las muestras con el requerimiento de hielo, ni el personal que lo transporte bajo estas condiciones, etc. De igual manera, en esas regiones tropicales, existen zonas con altas temperaturas ambientales. (Mayores de 40 °C) que son condiciones adversas a la conservación de la ADA (16).

En nuestro medio, nos ha llamado la atención, que las muestras de LP que se envían al laboratorio para la determinación de los niveles de ADA, se transportan sin ningún tipo de sustancia conservativa, ni hielo. En algunas muestras de LP, se añade heparina, para evitar la aglomeración de glóbulos rojos, (“botón hemático”) el cual puede interferir de manera no absoluta con el resultado citomorfológico del LP.

En este trabajo, se demostró la concordancia diagnóstica entre los diferentes medios de transporte analizados y que no se evidenció diferencia significativa entre los niveles de ADA determinados en cada uno de los diferentes medios de transporte. A diferencia del trabajo de Miller y col., el tiempo de envío desde el hospital hasta el laboratorio no fue de 5,25 días, sino de 1 a 2 horas, e inmediatamente se centrifugaron las muestras de LP en los cuatro medios de transporte y se almacenaron en nevera hasta su procesamiento. Opinamos que en 1 o 2 horas de transporte, las muestras que no tenían sustancia añadida y las que contenían heparina, teóricamente debían mostrar una caída en los niveles de ADA, lo que no se demostró ya que no cayeron los niveles de ADA. Se concluyó que posiblemente el tiempo de envío fue muy corto y las muestras se almacenaron inmediatamente en frío.

Entre las posibilidades de error en la medición de la ADA, además del tiempo entre la recolección de la muestra y el análisis, que ya se ha mencionado, también está el tiempo de almacenamiento en frío hasta su procesamiento. En relación con este último aspecto, un estudio demostró que los LPs transportados en tubos con ácido etilen diamino tetracético (EDTA) enviados para determinar la ADA una hora después de su recolección, pueden ser usados hasta 28 días después de obtenidos, si estos son refrigerados a una temperatura de -4 a -20 °C. Se comprobó que no había alteraciones significativas de la actividad de la enzima en estas condiciones. El EDTA fue previamente utilizado por Giusti y Gakis en 1971 cuando estos autores describieron la técnica para

determinar la actividad enzimática de la ADA, ya que el único anticoagulante que altera los resultados de la ADA, es la heparina (17).

Concluimos que aunque no se demostró diferencias significativas entre los valores de la ADA en LPs en los diferentes medios de transporte analizados, es recomendable enviar las muestras de LP en tubos con el conservativo adecuado y señalado por Miller y col. o utilizar tubos con EDTA de rutina en nuestro país. De esa manera, se garantiza la estabilidad de la enzima en las diferentes temperaturas del clima en las diversas regiones de nuestro país. Además su uso proporciona tranquilidad al médico cuando no se pueden enviar las muestras inmediatamente, o el mismo día, como sucede en días no laborales o en centros hospitalarios lejanos al laboratorio donde se realiza la determinación.

#### REFERENCIAS

1. Trajman A, Pai M, Dheda, 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;31:1098-1106.
2. Pérez-Aguilar MC, Goncalves L, Ibarra A, Bonfante-Cabarcas R. Adenosin deaminasa como molécula coestimuladora y marcador de inmunidad celular. *Invest Clin*. 2010;51:561-571.
3. Morisson P, Duprat Neves D. Evaluation of adenosine deaminase in the diagnosis of pleural tuberculosis: A Brazilian meta-analysis. *J Bras Pneumol*. 2008;34:217-224.
4. Liang QL, Shi HZ, Wang K, Qin SM, Qin XJ. Diagnostic accuracy of adenosine deaminase in tuberculous pleurisy: A meta-analysis. *Respir Med*. 2008;102:744-754.
5. Porcel JM. Tuberculous pleural effusion. *Lung*. 2009;187:263-270.
6. Burgess L, Maritz F, Le Roux I, Taljaard F. Combined use of pleural adenosine deaminase with lymphocyte/neutrophil ratio. *Chest*. 1996;109:414-419.
7. Gary Y, Rogers J, Rodriguez R, Miller K, Light R. Adenosine deaminase levels in nontuberculous lymphocytes pleural effusions. *Chest*. 2001;120:356-361.
8. Zaric B, Kuruc V, Milovanc A, Markovic M. Differential diagnosis of tuberculous and malignant pleural effusions: What is the role of adenosine deaminase? *Lung*. 2008;186:233-240.
9. Laniado-Laborín R. Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusion. Is it really an ideal test? A word of caution. *Chest*. 2005;127:417-418.
10. Light RW. Update on tuberculous pleural effusion. *Respirol*. 2010;15: 451-458.
11. Quiñones-Silva JB, Ramírez-Yépez CH, Peña-Oscuvilca A, Estrada-Choque E. Validez de la prueba de adenosina deaminasa y del recuento diferencial de leucocitos para el diagnóstico de tuberculosis pleural. *Ann Fac Med*. 2010; 71:18-22.
12. Rojas B, Yi A, Accinelli R. Adenosine deaminase in the diagnosis of pleural tuberculosis. *Rev Med Hered*. 1993;4:115-118.
13. Krenke R, Safianowska A, Paplinska M, Nasilowski J, Dmowska-sobstyl B, Bogacka-zatorska B, et al. Pleural fluid adenosine deaminase and interferon gammas diagnostic tools in tuberculous pleurisy. *J Physiol Pharmacol*. 2008;59(Suppl 6): 349-360.
14. Giusti E. Adenosine Deaminase. En: Bergmayer HU, editor. *Methods of enzymatic analysis*. 2ª edición. Nueva York: Academic Press Inc; 1974.p.1092-1099.
15. Greco S, Girardi E, Masciangelo R, Capocetta G. B, Saltini C. Adenosine deaminase and interferon gamma measurements for the diagnosis of tuberculous pleurisy: A meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2003; 7:777-778.
16. Miller K, Barnette R, Light R. Stability of adenosine deaminase during transportation. *Chest*. 2004;126:1933-1937.
17. Antonangelo L, Vargas F, Almeida L, Acencio M, Gomes F, Sales R, et al. Influence of storage time and temperature on pleural fluid adenosine deaminase determination. *Chest*. 2006;11:488-449.