



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO  
FEDERICO GÓMEZ

---

**Estudio comparativo entre el ensayo de Interferón Gamma en sangre total con la Prueba de Tuberculina para detectar Infección por Mycobacterium Tuberculosis en población pediátrica.**

## TESIS

Para optar por el título en la Especialidad de:

**NEUMOLOGÍA PEDIÁTRICA**

**PRESENTA:**

Dr. Luis Oswaldo Duarte Jiménez

**DIRECTOR DE TESIS:**

Dr. José Luis Lezana Fernández

**ASESORES:**

Dra. Ruth Saraf Aldana Vergara.



HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO  
FEDERICO GÓMEZ

Instituto Nacional de Salud

75 AÑOS DE EXCELENCIA EN PEDIATRÍA

Salud para las Nuevas Generaciones

MÉXICO, DF.

FEBRERO 2009



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).

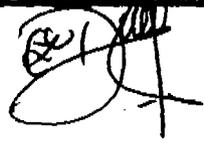
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Derive Jimenez Luis

FECHA: 15/10/10

FIRMA: [Signature]



Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo profesional.

NOMBRE: Doroteo Jimenez Luis

FECHA: 18/10/2010

FIRMA: [Firma manuscrita]



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO  
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GOMEZ

---

**Estudio comparativo entre el ensayo de Interferón Gamma en sangre total con la Prueba de Tuberculina para detectar infección por Mycobacterium Tuberculosis en población pediátrica.**

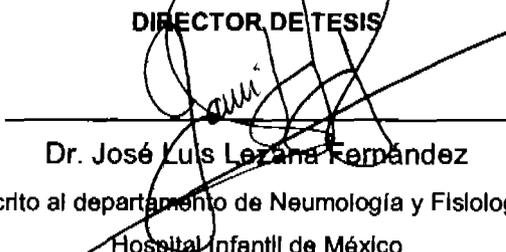
Tesis para optar por el título en la Especialidad de :

**NEUMOLOGÍA PEDIATRICA**

**PRESENTA:**

  
Dr. Luis Oswaldo Duarte Jimenez

**DIRECTOR DE TESIS**

  
Dr. José Luis Lezana Fernández

Medico Adscrito al departamento de Neumología y Fisiología Pulmonar  
Hospital Infantil de México

**ASESOR:**

\_\_\_\_\_  
Dra. Ruth Saraf Aldana Vergara

Jefe Departamento de Neumología y fisiología Pulmonar

MÉXICO, DF.

FEBRERO 2009

  
Dra. Yolanda Rocío Peña Alonso  
Directora de Enseñanza y Desarrollo Académico.



## **AGRADECIMIENTOS**

**Madre.....** en cada paso de mi vida hay un recuerdo, un consejo y sobre todo una semilla que procurare transmitir con el mismo Amor con que lo has hecho tu.

**Daniela....**Por darle un nuevo sentido a mi vida, llenándolo de Amor y convertirte en el motor de mi vida.

**María Regina....**sin saberlo.....sin merecerlo... desde antes ya era tuyo y del Amor naciste.

**Alexandro...** antes niños, en los juegos, hoy adultos en la vida, y mañana siempre igual como desde antes te acuerdas??? Cuando ríes yo canto.

**Alma...Hermana...** Por llegar a nuestras vidas...pero mejor aun por quedarte en ellas y compartir cada momento juntos.

**A mis compañeros Jenny Then** por mostrar ese entusiasmo en cada cosa que haces, **Minerva Juárez** por tu determinación en cada una de tus metas, **Karla Saravia** por mostrar esa dedicación en todas las cosas que te propones, me llevo algo de cada uno de ustedes. Los amigos a veces crecen separados para continuar siendo amigos.

**Dra. Ruth Aldana, Dr. José Luis Lezana, Dra. Jamaica,** gracias por su paciencia, por compartir sus conocimientos, y por su dedicación en ayudarnos a crecer de forma profesional y personal a cada uno de nosotros.

**Y sobre todo al que no vemos, pero sentimos y nos toma de la mano en cada paso que damos en nuestras vidas.....**

**Gracias.....**

# INDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEORICO	5
III. JUSTIFICACION	15
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
V. OBJETIVO	17
VI. HIPÓTESIS	17
VII. METODOLOGÍA	17
VIII. RESULTADOS	24
IX. DISCUSION	25
X. CONCLUSION	26
XI. REFERENCIAS	27
XII. ANEXOS	29

**Palabras Claves:** Tuberculosis, PPD, Cuantiferon

**Docente:** Universidad Nacional Autónoma de México.

Facultad de Medicina. División de Estudios de Postgrado.

Hospital Infantil de México Federico Gómez.

## I. INTRODUCCION

La tuberculosis (TB) es una importante causa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, con 8.8 millones de casos reportados en 2003 por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y 1,7 millones de muertes (1). En México se reportaron 17,500 nuevos casos, solamente durante el último año.

Actualmente son cuatro las estrategias utilizadas para el control de TB; El diagnóstico temprano y tratamiento de nuevos casos, la aplicación de vacuna BCG, el control ambiental y el tratamiento de los casos con tuberculosis latente (TBL) para reducir el riesgo individual de desarrollar TB con el subsecuente beneficio en salud pública al reducir el número de individuos infectados capaces de desarrollar TB activa en el futuro (2-5).

La TB por su prolongado y variable periodo de infección latente donde el individuo es asintomático, ofrece la inmejorable oportunidad de detección por escrutinio. Durante este tiempo es posible realizar el diagnóstico de infección por *Micobacterium tuberculosis* (MBT), con la posibilidad de un tratamiento aceptable que permita reducir la posibilidad de enfermedad evitando la morbilidad y mortalidad asociadas a infección activa.

Hasta hace unos años, la única herramienta estandarizada para diagnóstico de infección por MBT es la prueba de la tuberculina aún cuando presenta limitaciones bien conocidas. La prueba de la tuberculina utilizada desde los años 30's y actualmente las preparaciones con derivado proteico purificado (PPD) contiene una mezcla de antígenos que inducen una reacción de hipersensibilidad tardía y refleja la respuesta inmune celular contra MBT, donde el tamaño de la reacción clasifica a los individuos de acuerdo a su posibilidad de infección (5), sin embargo estos valores de corte en la prueba de tuberculina pueden clasificar de manera errónea a subpoblaciones de individuos con posible infección por MBT cuantificada por sensibilidad y especificidad. Con los actuales criterios para considerar un resultado positivo.

La prueba de tuberculina carece de sensibilidad en pacientes inmunocomprometidos, individuos con infección reciente, en lactantes y en algunos casos con enfermedad activa. Por otro lado, su especificidad es limitada debido a la reactividad cruzada de los antígenos del PPD con antígenos de *Mycobacterium bovis* presentes en la vacuna BCG y en muchas micobacterias ambientales no tuberculosas. Finalmente la prueba de la tuberculina puede no ser estable en el tiempo, esto es, el tamaño de la reacción puede ser mayor con aplicaciones repetidas en individuos previamente sensibilizados por micobacterias (6-8).

En base a la sensibilidad, especificidad y la prevalencia de TB en los diferentes grupos, la Academia Americana de Pediatría (9) recomienda tres valores de corte para definir una reacción tuberculínica positiva en población pediátrica.

1. Induración  $\geq$  5 mm.:

- Contacto estrecho con casos contagiosos conocidos o sospechosos de enfermedad tuberculosa.
- Sospecha de TB por:
  - a) Hallazgos en la radiografía de tórax consistentes con TB activa o TB previamente activa.
  - b) Evidencia clínica de TB enfermedad.
- Pacientes en tratamiento inmunosupresivo o con enfermedades inmunosupresivas, incluyendo infección por VIH.

2. Induración  $\geq$  10 mm:

- Niños con riesgo elevado de enfermedad diseminada.
  - a)  $>4$  años.
  - b) Con otras condiciones médicas; incluyendo enfermedad de Hogkin, linfoma, diabetes mellitus, insuficiencia renal crónica, desnutrición.
- Niños con aumento en la exposición a TB enfermedad.
  - a) Nacidos o quienes sus padres nacieron en regiones con alta prevalencia de TB.
  - b) Expuestos a adultos con infección por VIH, cuidadoras, enfermeras a domicilio, uso de drogas, inmigrantes.
  - c) Aquellos que viajan a regiones de alta prevalencia.

### 3. Induración $\geq$ 15 mm:

- Niños de 4 años o mayores sin ningún factor de riesgo.

Una prueba de escrutinio ideal para el diagnóstico de TBL debe tener características como una sensibilidad alta en poblaciones de riesgo.

La importancia del papel que juegan los linfocitos T y el interferón gamma (INF- $\gamma$ ) en la TB, ha llevado al desarrollo de nuevos métodos diagnósticos in vitro para detectar infección por *Mycobacterium tuberculosis*. El diagnóstico por este método se basa en una fuerte respuesta de mediada por células T para la producción de INF- $\gamma$  medida por una prueba de ELISA para los antígenos específicos de MBT, el antígeno temprano-6 (ESAT-6) y el filtrado de proteína-10 (CFP-10). La expresión de ambas proteínas está ausente en individuos con BCG y en muchas de las micobacterias ambientales. Este método ofrece la ventaja de realizarse en una sola visita, tiene poca variabilidad inter-observador y no tiene efecto booster (refuerzo) con la repetición del estudio (10,11). Ha sido utilizada de manera efectiva para discriminar entre infección tuberculosa, aplicación previa de BCG o exposición a micobacterias no tuberculosas, con una mejor sensibilidad y especificidad que la prueba de tuberculina para diagnóstico de TBL (12-14), así como su potencial en el diagnóstico de tuberculosis activa (15).

El QuantiFERON-TB-Gold en tubo® (Cellestis Ltd., Victoria, Australia), es un método aprobado por la European CE Mark y la American Food and Drug Administration (FDA), para la determinación cuantitativa de INF- $\gamma$  en sangre ante la estimulación con los antígenos específicos ESAT-6 y CFP-10. Este método diagnóstico basado en la respuesta de INF- $\gamma$  probablemente tenga aplicaciones en países en vías de desarrollo, principalmente por la inseguridad en los resultados del PPD, mas aún cuando algunos autores reportan que la aplicación de vacuna BCG al nacimiento duplica el riesgo relativo de falsos positivos del PPD (16).

Una prueba diagnóstica más sensible permitiría la mejor detección de infección por *Mycobacterium tuberculosis* y contribuir al diseño de mejores estrategias para control y prevención de tuberculosis en población pediátrica.

El diagnóstico de infección por *Mycobacterium tuberculosis* es aún más complejo en el paciente inmunocomprometido, en pacientes con insuficiencia renal crónica, en infección por VIH, etc., en quienes la prueba de la tuberculina tiene pobre sensibilidad y especificidad (17).

## **II. MARCO TEORICO**

La magnitud del problema de la tuberculosis parece gigantesca desde una perspectiva global. Las micobacterias son microorganismos que causan enfermedades granulomatosas y necrosantes crónicas. Pueden afectar cualquier órgano.

Son bacilos finos, inmóviles, no esporulados y Gram – positivos . tienen una pared celular rica en ácidos micólicos y en complejos lípidicos que le confieren la propiedad ácido - alcohol resistencia. Son muy ubicuos, de crecimiento lento, se reproducen cada 24 – 48 horas y son aerobios estrictos. Su estructura antigénica es muy compleja.

Las especies de micobacterias validadas son 85 y se incrementan constantemente. Se clasifican según la velocidad de crecimiento en el cultivo y por el color y aspecto de sus colonias. De crecimiento lento, si tardan 7 o mas días en crecer, y de crecimiento rápido, si tardan menos de 7 días.

Si al exponer el cultivo a la luz, las colonias desarrollan pigmentación son fotocromógenas; si presentan pigmentación aún en la oscuridad son escotocromógenas; y si carecen de pigmentación son no fotocromógenas.

### **TUBERCULOSIS PULMONAR**

#### **FUENTES DE INFECCIÓN**

El agente causal es el M. Tuberculosis complex constituido por M. Tuberculosis o bacilo de Koch, que es causante de la tuberculosis humana con más frecuencia, el M. Bovis, que causa la enfermedad en el ganado vacuno y actualmente se aísla en pocas personas, y M. Africanum, que se encuentra en algunos procedentes de África.

La infección inicial por el bacilo de la tuberculosis se transmite por el aire. Como Mycobacterium tuberculosis no contiene enzimas que le permitan penetrar por el moco, los microorganismos deben encontrarse en partículas de

tamaño suficientemente pequeño (menos de 5 micras) para penetrar la zona alveolar, sitio en el que no hay moco. Aunque no se conoce la dosis infecciosa mínima de *M. Tuberculosis* para el hombre.

La principal fuente de infección es el enfermo de tuberculosis pulmonar o laríngea sobre todo si se detectan bacilos en el frotis del esputo. Si el frotis es negativo y el cultivo es positivo, la capacidad de contagio es mucho menor.

#### FACTORES DE VIRULENCIA

Los factores de virulencia se pueden definir de tres maneras. Pueden ser directamente tóxicos para las células huéspedes, impedir los mecanismos efectores que controlan en condiciones normales la duplicación celular, o modular el equilibrio entre las citocinas, que fomentan el crecimiento y las que lo inhiben. Son tres los constituyentes de las capas exteriores de las paredes celulares complejas de *M. Tuberculosis*: factor de cordón, sulfolípidos y micósidos, que se han considerado factores de virulencia.

#### PATOGÉNESIS DE LA TUBERCULOSIS: HIPERSENSIBILIDAD RETRASADA CONTRA INMUNIDAD PROTECTORA

Hipersensibilidad de tipo retrasado (HTR) e inmunidad protectora pueden ser sucesos inmunológicos separables de los que los investigadores se valen para efectuar diversas observaciones en el ser humano y en animales de experimentación. El término fenómeno de Koch se refiere a la diferencia en la reacción a la carga con *M. Tuberculosis* del huésped que se encuentra inmune en comparación con el que no está. La infección primaria después de inoculación subcutánea en el cobayo produce una úlcera que no cicatriza; una segunda inyección induce una lesión indurada que se ulcera y cura con rapidez y por completo. El fenómeno de Koch se puede relacionar con una reacción inmunológica protectora. Sin embargo, la reacción del huésped sensibilizado a las micobacterias y a sus productos es, con toda claridad, una espada de dos filos. En contraste con la inoculación mediante microorganismos, la inyección intravenosa de tuberculina en un animal infectado produce choque tuberculino, y las inyecciones semejantes en pacientes con TB (efectuadas por Koch) se caracterizaron por exacerbación de la enfermedad pulmonar.

## PRUEBAS CUTÁNEAS DE LA TUBERCULINA

En 1890, Robert Koch anunció que había descubierto la curación de la tuberculosis (TB). Aconsejó tratar a los pacientes con dosis subcutáneas de lo que llamó tuberculina, líquido pardusco transparente obtenido de filtrados de los cultivos de *M. Tuberculosis*. Ese tratamiento producía una reacción febril en plazo de cuatro a cinco horas. En la mayoría de los pacientes la fiebre se acompañaba de vómito, escalofríos y otros síntomas generales. Koch informó que administrar a los pacientes dosis diarias crecientes de tuberculina daba por resultado curación rápida de los casos leves de TB, y mejoría progresiva lenta de los casos más graves.

Koch no se percató de que había descubierto lo que se convertiría en una de las pruebas diagnósticas más ampliamente utilizadas que jamás se hayan desarrollado.

## TIPOS DE TUBERCLINA

El método original empleado por Koch para preparar la tuberculina consistió en desarrollar a los bacilos tuberculosos en medio de caldo de carne glicerinado y, a continuación, en matar a los microorganismos por calor en un gabinete de flujo de vapor a 100 grados centígrados. El medio de cultivo restante se concentró a la décima parte de su volumen original a baño maría. Como la tuberculina de este tipo contiene derivados del caldo de carne, ya no se encuentran en el empleo general. Los dos tipos de tuberculina que se han utilizado en la actualidad son tuberculina concentrada por calor en medio sintético (tuberculina vieja) y derivado proteínico purificado (PPD) de la tuberculina.

## DERIVADO PROTEICO PURIFICADO DE LA TUBERCULINA (PPD)

En la actualidad se emplean más a menudo tres métodos para preparar PPD de la tuberculina: la precipitación mediante ácido tricloroacético (TCA) de medios de cultivo de bacilos desarrollados en medio sintético de long, la precipitación mediante sulfato de amonio (AS) de filtrados de cultivo concentrados por ultra filtración, y la combinación de ambos métodos.

El estándar para todos los preparados de PPD es el PPD de tuberculina número de lote 49 608. se enviaron partes alícuotas de este lote, o PPD-S, preparado en 1941 por Selbart y Glenn, a la División of Biologics Standards en los National Institutes of Health para su empleo como estándar de referencia para Estados Unidos; se hizo lo mismo a diversas Instituciones comerciales y privadas para estudios de Investigación, y por último se envió al State Serum Institute, Copenhagen, Dinamarca. En 1952, la Organización mundial de la Salud (OMS) adoptó al PPD-S como Estándar Internacional para el Derivado Proteínico Purificado de tuberculina de Mamífero.

La unidad Internacional (UI) del PPD se define como la actividad biológica contenida en 0.000028 mg de PPD-S, que consiste en 0.00002 mg de PPD más 0.000008 mg de sales. El estándar se distribuye como polvo liofilizado; cada frasco ampula contiene 500 000 unidades Internacionales. En estados unidos y Canadá, la potencia de los preparados de PPD se expresa en unidades U.S (estadounidenses), o UT, más que como unidades Internacionales (UI). Una UT se define como 0.00002 mg de PPD-S.

#### REACCION INMUNOLÓGICA A LA TUBERCULINA

Después que una persona ha quedado infectada por micobacterias, los linfocitos T de los ganglios linfáticos regionales inician la proliferación y se sensibilizan. En plazo de nada más de semanas estas células T están circulando en la sangre. La inyección de tuberculina en la piel de esta persona estimula a los linfocitos y activa a la cascada, que culmina en una reacción de hipersensibilidad de tipo retrasado (HTR). Esta reacción se denomina "retrasada" por que requiere 24 a 48 horas para manifestarse. La reactividad dérmica consiste en vaso dilatación, edema e infiltración de linfocitos, basófilos, monocitos y neutrófilos en el sitio en que se ha inyectado el antígeno. Proliferan linfocitos T específicos para el en ese lugar. Por lo general se producen reacciones máximas a las 48 horas después de la inyección del antígeno. La zona en la que se producen la infiltración celular o la induración no hace más que reflejar la actividad de esta hipersensibilidad de tipo retrasado.

Puede sobrevenir eritema, fenómeno inflamatorio agudo caracterizado por enrojecimiento en el sitio de inyección, como reacción al antígeno de la prueba cutánea. El eritema se debe a vasodilatación y congestión de los capilares. Carece de importancia, y por sí solo no constituye una reacción positiva.

La sensibilización adecuada de los linfocitos para producir una reacción HTR detectable suele ocurrir a dos a 10 semanas después que la persona se infectó por M. Tuberculosis. Esta sensibilidad suele persistir por años, aunque la reactividad se desvanezca con la edad.

#### SENSIBILIDAD ESPECIFICIDAD DE LAS PRUEBAS DE LA TUBERCULINA

La prueba cutánea de la tuberculina es un método para identificar la presencia de infección por M. Tuberculosis; no es ni 100% sensible ni 100% específica. Cerca de 10% de los pacientes con TB activa no reaccionarán a la tuberculina, aunque la reactividad puede ser variable. También la variable especificidad de la prueba de la tuberculina. Los resultados de encuestas con pruebas cutáneas de tuberculina, en grupos de población de riesgos variables de infección por M. Tuberculosis, indicaron que algunas personas con reacciones menores de 6 mm de diámetro tenían poca probabilidad de manifestar pruebas radiográficas de calcificaciones pulmonares. La utilidad de la prueba de la tuberculina dependerá de la prevalencia de la infección por M. Tuberculosis y de la prevalencia relativa de las reacciones cruzadas con micobacterias no tuberculosas. En una población con prevalencia baja de infección tuberculosa, estarán en realidad infectados por micobacterias no tuberculosas la mayoría de los sujetos que reaccionan a la tuberculina (es decir, será bajo el valor de predicción positivo de la prueba). El valor de predicción positivo de una prueba cutánea de la tuberculina será mucho más elevado en las poblaciones en las que es más frecuente la infección por M. Tuberculosis. Por este motivo, sólo deberá efectuarse prueba cutánea de la tuberculina en un grupo de población que se encuentren en riesgo incrementado de infección tuberculosa.

#### RIESGO DE ENFERMEDAD EN LAS PERSONAS REACTIVAS A TUBERCULINA

El desarrollo de la TB consiste en infección inicial por M. Tuberculosis y progreso subsecuente hasta enfermedad activa. La probabilidad de quedar

infectado depende del contacto estrecho prolongado con una persona que experimenta TB activa. Una vez establecida la infección, el riesgo de progreso de la enfermedad activa se verá influido por factores intrínsecos del individuo. Es importante la edad en el momento de la infección; los muy jóvenes y los muy viejos están en mayor peligro de sufrir tuberculosis clínica. Ser varón o estar 10% por debajo del peso corporal ideal incrementa también el riesgo de enfermedad activa después de la infección; se desarrollará TB activa en 5 a 15% de las personas con trastornos de las defensas en plazo de dos años después de la infección primaria. Aunque este riesgo disminuye con el paso de tiempo, el riesgo adicional durante las edades avanzadas da por resultado un riesgo acumulativo de 10% para toda la vida.

La supresión de la inmunidad medida por células como resultante de la infección por el virus de la Inmunodeficiencia humana (HIV), puede acelerar el desarrollo y el progreso de TB activa en personas infectadas por M. Tuberculosis.

## ADMINISTRACIÓN DE LA PRUEBA DE LA TUBERCULINA

### TÉCNICA DE MANTOUX

La prueba cutánea de Mantoux consiste en inyección intracutánea de tuberculina en la superficie anterior del brazo. Se emplea una jeringa de tuberculina con aguja calibre 26 o 27 para introducir 0.1 ml de antígeno justamente por debajo de la capa superior de la piel; debe percibirse cierta resistencia conforme se inyecta el antígeno en la piel. Si la prueba se aplica de manera correcta, se producirá una elevación pálida en la piel (roncha) de 6 a 10 mm de diámetro. Si no se produce roncha, si el antígeno entra en la piel con poca resistencia, si la mayor parte de la tuberculina se fuga del sitio de inyección, o si no se ha administrado completo el 0.1 ml del antígeno, se hará administrado de manera inapropiada la prueba cutánea.

Deberá efectuarse de inmediato otra prueba en un sitio que esté apartado por los menos 5 cm de la inyección original.

La dosis recomendada de PPD para la prueba cutánea es de 5 UT. Se dispone en el comercio de otras potencias de la tuberculina; sin embargo, tienen poca utilidad clínica porque a menudo pueden producir reacciones negativas falsas o positivas falsas. Nunca se almacenara el antígeno en jeringas durante (as de una hora. La exposición prolongada a la luz reduce también la potencia del antígeno. La tuberculina debe refrigerarse y guardarse en la oscuridad en todo lo posible.

#### LECTURA DE LA PRUEBA DE LA TUBERCULINA

Los resultados de la prueba de la tuberculina se leen 48 a 72 horas después de administrarla, por que es el intervalo requerido para el desarrollo de una reacción de hipersensibilidad tipo retrasado. Las lecturas se efectuará bajo buena luz y deberá ponerse en flexióna ligera el antebrazo del paciente a nivel del codo. Los bordes de Induración se identifican mediante deslizamiento del dedo índice ligeramente a través de la zona de reacción. Cuando la Induración se fusiona de manera Imperceptible con la piel circundante tal vez sea difícil localizar sus bordes,. Es de utilidad examinar la reacción bajo luz cruzada con fricción ligera de la Induración con el dedo para definir los bordes exteriores de la reacción. Una vez que esta marcados los bordes, con una regla flexible se mide la induración en sentido transverso a nivel de su diámetro más amplio.

Los resultados de las pruebas cutáneas de la tuberculina deben anotarse en milímetros de Induración; los términos "positiva" o " negativa" no brindan información sobre el tamaño de la reacción, y vuelve un problema las decisiones subsecuentes relacionadas con el tratamiento preventivo.

#### INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA DE LA TUBERCULINA

Los criterios de la American Thoracic Society (ATS) y de los Centres Disease Control and Prevention (CDC) para considerar positiva una prueba cutánea de la tuberculina tienen como finalidad incrementar la probabilidad de que se consideren los sujetos de alto riesgo de tuberculosis para el tratamiento preventivo, y que se excluyan del tratamiento farmacológico Innecesario los sujetos que tienen reacciones a la tuberculina no causadas por la infección de M. Tuberculosis.

Las reacciones de las personas que han estado poco tiempo antes en contacto estrecho con una persona que experimenta TB activa, y las que tienen radiografías de tórax anormales que sugieren TB, serán tal vez casos de infección por M. Tuberculosis. Además, las personas infectadas por HIV pueden tener capacidad limitada para reaccionar a la tuberculina, incluso aunque estén infectados por bacilos tuberculosos. Los sujetos de estos grupos están en gran riesgo de sufrir tuberculosis; por tanto, es apropiado establecer un límite de 5 mm para garantizar que quienes estén infectados por M. Tuberculosis se consideren candidatos al tratamiento preventivo.

Se consideran casos de bajo riesgo moderado de enfermedad activa las personas con otros factores de riesgo de TB, como los trastornos médicos que se sabe incrementan el riesgo de enfermedad (diabetes, gastrectomía y psicosis) lo mismo que las que sufren trastornos de las defensas a causa de otras enfermedades u otros tratamientos farmacológicos. En estos grupos deberá considerarse positiva la reacción de 10 mm de diámetro o mayor. Este punto limítrofe también es apropiado para las personas nacidas en países que tienen prevalencia elevada de TB, los residentes de instituciones correccionales y de casas de asistencia o asilos, y los empleados de hospitales y de laboratorios de micro bacteriología.

#### REACCIONES POSITIVAS FALSAS A LA TUBERCULINA

Un número pequeño de reacciones a la tuberculina pueden deberse a errores en la administración de esta prueba o de la lectura de los resultados; sin embargo, las causas más frecuentes de reacciones positivas falsas son infección por micobacterias no tuberculosas o vacunación con bacilo de Calmette – Guérin (BCG).

Una causa importante de interpretación errónea de una reacción positiva como indicación de infección tuberculosa es la hipersensibilidad a micobacterias distintas a M. Tuberculosis. La infección por Mycobacterium avium u otros

miembros del género *Mycobacterium* puede dar por resultado sensibilidad a la tuberculina. Se producen reacciones cruzadas en muchas partes del mundo.

En los niños vacunados con BCG, las reacciones a la tuberculina tienen un tamaño que varía entre 3 y 19 mm de diámetro. La presencia o el tamaño de las reacciones de la prueba cutánea de la tuberculina efectuada después de la vacunación no permiten predecir con confianza el grado de protección que ha ofrecido el bacilo BCG.

Después de la vacunación con BCG no es posible distinguir entre reacción cutánea a la tuberculina producida por infección microbacteriana virulenta y la producida por la propia vacunación. La reactividad cutánea a la tuberculina a causa de vacunación con BCG se disipa con el tiempo, y es poco probable que persista más allá de los 10 años que siguen a la vacunación. Por lo tanto, debe incluirse la TB en el diagnóstico diferencial de cualquier enfermedad de tipo de la TB, sobre todo si la persona recibió BCG varios años antes de someterse a la prueba de la tuberculina o si se ha expuesto poco tiempo antes a personas que experimentan TB infecciosa.

La prueba cutánea de la tuberculina es una de las pruebas diagnósticas empleadas con mayor amplitud que jamás se hayan desarrollado, y se sigue siendo un método muy utilizado para diagnosticar infección por *M. Tuberculosis*, pero hay que tomar en cuenta que ocurren reacciones positivas falsas y negativas falsas a la tuberculina, lo que dificulta en ocasiones la toma de decisiones en cuanto al tratamiento preventivo. Dentro de pruebas más sensibles desarrolladas se encuentra la de QuantIFERN-TB-Gold

El QuantIFERON-TB-Gold en tubo® (Cellestis Ltd., Victoria, Australia), es un método aprobado por la European CE Mark y la American Food and Drug Administration (FDA), para la determinación cuantitativa de IFN- $\gamma$  en sangre ante la estimulación con los antígenos específicos ESAT-6 y CFP-10.

Este método diagnóstico basado en la respuesta de INF- $\gamma$  probablemente tenga aplicaciones en países en vías de desarrollo, principalmente por la inseguridad en los resultados del PPD, mas aún cuando algunos autores reportan que la

aplicación de vacuna BCG al nacimiento duplica el riesgo relativo de falsos positivos del PPD (16). Una prueba diagnóstica más sensible permitiría la mejor detección de infección por *Micobacterium tuberculosis* y contribuir al diseño de mejores estrategias para control y prevención de tuberculosis en población pediátrica.

El diagnóstico de infección por *Micobacterium tuberculosis* es aún más complejo en el paciente inmunocomprometido, en pacientes con insuficiencia renal crónica, en infección por VIH, etc., en quienes la prueba de la tuberculina tiene pobre sensibilidad y especificidad (17).

### III. JUSTIFICACIÓN

El diagnóstico de infección por *Micobacterium tuberculosis* en niños se basa actualmente en los resultados de la prueba de tuberculina (PPD). Estos resultados pueden no ser del todo confiables dada la baja sensibilidad y especificidad de la prueba reportada en pacientes con antecedente de vacunación con BCG, en sujetos desnutridos, con insuficiencia renal crónica, infección por VIH o con estados de inmunodeficiencia, además de requerir de por lo menos dos visitas. Por lo tanto, se hace necesaria una prueba de detección simple, rápida, aplicable en población pediátrica, sin reactividad cruzada con el BCG y que demuestre utilidad aún en pacientes con patologías que comprometan el estado inmune del paciente..

La prueba QuantiFERON-TB-Gold® ha mostrado excelente resultados en sujetos adultos, vacunados con bajo riesgo, seleccionados con alto riesgo, en pacientes con TB activa, así como sujetos sanos con exposición reciente a MBT, finalmente el estudio QuantiFERON-TB-Gold® es una buena herramienta diagnóstica en población no seleccionada.

La prueba de QuantiFERON-TB-Gold no ha sido extensamente aplicada en población pediátrica, por lo que se justifica un estudio para comparar los resultados del PPD con el nuevo método diagnóstico en nuestra población pediátrica que acude a la consulta externa de un hospital de tercer nivel, determinando el nivel de concordancia entre ambas pruebas. Este estudio permitirá además evaluar el desarrollo y reproducibilidad de este nuevo método diagnóstico, con la ventaja de requerir solamente una visita a diferencia del PPD y no tiene efecto de refuerzo.

#### IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La prueba de la tuberculina con derivado proteico purificado (PPD) es actualmente el método más utilizado y fundamental para el estudio de contactos en población pediátrica, aún cuando solamente indica infección por *Mycobacterium tuberculosis*, sin determinar si el bacilo se encuentra en estado latente o no. La prueba de PPD ha sido utilizada masivamente aún cuando tiene limitaciones bien conocidas, su sensibilidad es baja y limitada, específicamente por su reactividad cruzada con la vacuna BCG y con muchas de las micobacterias no tuberculosas. Mas aún, la sensibilidad del PPD es particularmente baja en población con un alto riesgo de progresión hacia TB enfermedad; pacientes inmunocomprometidos, con infección por VIH, etc., en los cuales la tasa de resultados falsos negativos puede ser alta.

El resultado de la prueba cutánea de tuberculina (PPD), independientemente de sus limitaciones, es actualmente la principal herramienta disponible en nuestro medio para diagnóstico de infección por *Mycobacterium tuberculosis* en la edad pediátrica. Son necesarios métodos diagnósticos mas sensibles y específicos ante la carencia de criterios estandarizados para diagnóstico de TBL.

Estudios recientes indican que la prueba de INF- $\gamma$  mediante la estimulación con los antígenos de MBT específicos ESAT-6 y CFP-10 en sangre total pudieran tener mejor sensibilidad y especificidad que el PPD para diagnóstico de TB latente.

## **V. OBJETIVO**

- 1) Comparar el nivel de concordancia entre la prueba QuantiFERON-TB-Gold en tubo®, con el resultado del PPD .

## **VI. HIPOTESIS.**

El método QuantiFERON-TB-Gold® tiene un nivel alto de concordancia con el PPD para diagnóstico de Infección por *Mycobacterium tuberculosis* en población pediátrica.

## **VII. MATERIAL Y METODOS.**

### **7.1 Diseño**

El presente estudio propone, comparar el nivel de concordancia entre la prueba de PPD y el método de QuantiFERON-TB-Gold en tubo® de este nuevo método en una población pediátrica con antecedente de contacto estrecho de TB y en pacientes inmunodeficientes procedentes del Hospital General de México. El nuevo método está basado en el aumento en sangre periférica de los niveles de INF- $\gamma$  ante la estimulación de los antígenos específicos ESAT-6 y CFP-10, detectados por ELISA (método QuantiFERON-TB-Gold en tubo®). Estos antígenos no son compartidos por la vacuna BCG ni por la mayoría de las micobacterias no tuberculosas, por lo que no muestran reacción cruzada.

Se trata de una comparación prospectiva realizada en una población pediátrica entre el método QuantiFERON-TB-Gold en tubo® con el resultado del PPD, para diagnóstico de infección por *Mycobacterium tuberculosis*.

Los datos demográficos y epidemiológicos serán registrados en una hoja de vaciamiento de datos.

### **7.2 Obtención de pacientes.**

Se planteó inicialmente la inclusión de 50 pacientes sin embargo se obtuvieron 56 pacientes en total. Sexo indistinto, en edad pediátrica entre 0 y 18 años de edad con COMBE positivo, procedentes del Hospital General de México y pacientes con alguna inmunodeficiencia y sospecha clínica de TB, procedentes de la consulta externa o del área de hospitalización del Hospital Infantil de México "Federico Gómez".

### **7.3 Tamaño de la muestra.**

Debido a que no existen estudios en la población pediátrica que permitan obtener un delta y desviación estándar, de las variables a medir, para el cálculo del tamaño muestral se realizó un cálculo empírico por tratarse de un estudio piloto obteniendo 50 pacientes sin embargo utilizamos 76 pacientes en total.

### **7.4 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.**

#### **7.4.1 Inclusión.**

1. Pacientes del género masculino o femenino de 0 a 18 años de edad, enviados al Depto. de Neumología y Fisiología Pulmonar
2. Con o sin antecedente de vacunación con BCG.
3. Aceptación y firma del consentimiento informado escrito.

#### **7.4.2 Exclusión.**

1. Aplicación de la prueba de la tuberculina (PPD) en los 2 meses previos a su inclusión en el estudio.
2. Antecedente de tuberculosis activa.
3. No aceptación del consentimiento informado escrito.

#### **7.4.3 Eliminación.**

1. Aplicación de solamente uno de los métodos en estudio (PPD, QuantiFERON-TB-Gold en tubo®).
2. Resultado inválido de la aplicación del PPD (lectura tardía > 72 hrs.).

### **7.5 Descripción del procedimiento.**

Se incluirán pacientes de sexo indistinto que acudan a consulta externa y hospitalizados, con padecimientos crónicos que comprometan su estado inmunológico, la selección será no probabilística por casos consecutivos. En cada paciente se programarán 3 visitas durante las cuales se realizarán interrogatorio y antecedentes en la hoja de vaciamiento de datos, aplicación de PPD, toma de una muestra de sangre para el método de QuantiFERON.TB.Gold en tubo® (visita 1) y lectura del PPD a las 48 y 72 horas (visita 2 y 3).

### Visita 1.

Se procederá a la lectura y en su caso firma del consentimiento informado escrito. Interrogatorio con datos epidemiológicos registrándose estos en la hoja de vaciamiento de datos, verificando se cumplan los criterios de inclusión. Se consignará la aplicación de vacuna BCG y si existe el antecedente de aplicación de PPD previo, los antecedentes de contacto con individuos con TB activa, padecimiento actual, etc. Todos los datos serán capturados en un formato diseñado para tal fin (ver anexo).

Se tomará una muestra de 6 ml., aproximadamente de sangre total para el análisis de INF- $\gamma$  por el método estandarizado de QuantiFERON-TB-Gold en tubo® y se aplicarán 5UT de derivado proteico purificado (PPD) en la cara anterolateral del antebrazo derecho conforme a la técnica estandarizada (18).

### Visita 2.

A las 48 horas de la visita 1 el paciente acudirá al hospital para lectura del PPD en su diámetro transversal (18,19), los resultados se anotarán en la hoja correspondiente (ver anexo).

### Visita 3

El paciente acudirá al hospital a las 72 horas de la visita 1 para una segunda lectura en el sitio de aplicación del PPD, la cual se realizará en forma idéntica a la de la visita 3, anotando los resultados en la hoja correspondientes (ver anexo).

## **7.6 Definición operativa de las variables y escalas de medición.**

### **Intervenciones:**

Análisis de Interferón-gama midiendo la respuesta de Interferón-gama a los antígenos ESAT-6 y CFP-10 en sangre total. Aplicación de 5 UI de derivado proteico purificado (PPD).

La variable primaria será la concordancia entre los resultados del método QuantiFERON-TB-Gold en tubo® y el resultado de la lectura del PPD a las 48 y 72 horas.

**Medición de las variables:**

Datos demográficos y epidemiológicos.

Resultado del PPD.

Resultado del método QuantIFERON-TB-Gold en tubo®.

**7.6.1 Variables demográficas y epidemiológicas**

**Edad:** 0 a 18 años.

**Padecimiento por el que acude al hospital:** Enfermedad(es) por las que el paciente acude a consulta.

**Contacto:** Convivencia con un caso de TB, variable nominal dicotómica.

**BCG:** Antecedente de aplicación medida como variable nominal dicotómica.

**Antecedente de PPD:** Anotar fecha de aplicación y resultado en caso de conocerse.

**7.6.2 Prueba de tuberculina (PPD):** variable dependiente, cuantitativa discreta, sin embargo para fines de análisis se describirá como cualitativa dicotómica.

Se aplicará la prueba de tuberculina utilizando 5UT de derivado proteico purificado RT23 (lote y fabricante) el cual se administrará en forma intradérmica con jeringa de insulina en la superficie anterolateral del antebrazo conforme al método de Mantoux (20).

El resultado será medido en milímetros y de forma transversal cualquier induración usando el método ball-point (18). Para valorar la variabilidad de los resultados, un segundo lector realizará la lectura de cada participante en el estudio utilizando la misma técnica y consistente con el estándar de interpretación de riesgo-estratificado de la American Thoracic Society (18). Los resultados se anotarán en la hoja correspondiente (ver anexo).

Una induración de 10 mm o mayor será considerada como positiva. Se utilizarán también valores de corte a 5 y 15 mm para comparación.

**7.6.3 Determinación de INF- $\gamma$  por el método QuantIFERON-TB-Gold en tubo®; variable dependiente, cuantitativa continua, para fines de análisis se establecerá como cualitativa poltomica (positivo, negativo, Indeterminado).**

Para el estudio de INF- $\gamma$  se utilizó el kit comercial QuantIFERON-TB-Gold® en su versión "en tubo", el cual comprende dos etapas:

a). Primera etapa, Se coleccionarán 4 tubos heparinizados con un ml cada uno de sangre total del paciente. Tubo 1; control negativo de sangre total con heparina. Tubo 2; control positivo de sangre total del paciente heparinizada con fitohemaglutinina mitógena de células T. Tubo 3; problema, con sangre total heparinizada del paciente y el antígeno específico de Mycobacterium tuberculosis ESAT-6. Tubo 4; problema, con sangre total heparinizada y el antígeno específico de Mycobacterium tuberculosis CFP-10 y péptido TB7.7. Entre 2 y 6 horas de tomadas las muestras, los tubos serán incubados a 37 grados centígrados durante 16 a 24 horas.

b). Segunda etapa. Después del tiempo de incubación, los tubos se centrifugan y se extraen 200  $\mu$ l de plasma de cada tubo, se etiquetan con las iniciales del paciente, fecha de estudio y número de expediente y se congelan a - 70 grados centígrados. Al final de cada semana se realizará la determinación de INF- $\gamma$  en todos los tubos almacenados (4 por paciente) por el método de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) conforme a las instrucciones del fabricante (Cellestis Ltd). Los resultados se anotarán en la hoja correspondiente (ver anexo).

Los valores de INF- $\gamma$  (UI/ml) para los antígenos específicos ESAT-6, CFP-10 y TB7.7 así como para el mitógeno o control positivo, serán corregidos restandoles el valor obtenido en el control negativo, tal como lo recomienda el fabricante y con base en estudio previos (33,43,44).

El resultado del estudio se considerará:

1. Negativo; si la respuesta a los antígenos específicos (después de restar el valor obtenido en el control negativo) son  $< 0.35$  UI/ml., y si el nivel de INF- $\gamma$  en el control positivo o mitógeno es  $\geq 0.5$  IU/ml., después de restar el valor obtenido en el control negativo.

2. Indeterminado; si la respuesta a los antígenos específicos (ESAT-6 y CFP-10) es negativa ( $< 0.35$  UI/ml.) después de restar el valor obtenido en el control negativo y si el valor del control positivo (mitógeno) es  $< 0.5$  UI/ml., después de restar el valor obtenido en el control negativo.
3. Positiva; si la concentración de INF- $\gamma$  en los tubos con antígenos ESAT-6 y CFP-10 es  $\geq 0.35$  UI/ml., después de restar el valor obtenido en el control negativo, independientemente del resultado en el control positivo (mitógeno).

Dado que este método de ELISA no puede determinar con precisión los valores absolutos de INF- $\gamma$  cuando estos exceden las 10 UI/ml. Por lo tanto, valores de INF- $\gamma$  de 10 UI/ml o mayores serán considerados como un valor de 10 UI/ml en el presente estudio (33,44).

#### **7.7 Limitaciones del estudio.**

Debido a la carencia de un estándar de oro para diagnóstico de TB, no es posible hacer la comparación con un grupo control sano para determinar la sensibilidad y especificidad del método. Considerando el presente como un proyecto inicial para demostrar su correlación con el método habitual de PPD, en pacientes pediátricos que acuden a un hospital de tercer nivel. Se requerirán estudios posteriores con distintas subpoblaciones de pacientes pediátricos.

#### **7.8 Tecnología utilizada.**

Se empleará el método comercial QuantIFERON-TB-Gold en tubo® aprobado por la Food and Drug Administration (FDA), el cual determina la producción de INF- $\gamma$  por linfocitos T en sangre total, ante el estímulo de los antígenos específicos de *Mycobacterium tuberculosis* ESAT-6 y CFP-10, empleando la técnica de ELISA. Este método no requiere de instalaciones o equipo especial.

Todos los materiales para la realización de la prueba serán adquiridos en la empresa Cellestis, Inc., en los Estados Unidos. Contemplándose un número determinado de estudios para familiarizarse con el procedimiento.

#### **7.9 Instrumentos de recolección de datos.**

Hoja de recolección de datos (ver anexos).

#### **7.10 Análisis estadístico.**

En el análisis descriptivo, para las variables categóricas tales como sexo, estado de contacto, se describen como proporciones y frecuencias.

A las variables cuantitativas se les realizó medidas de tendencia central, reportándose media en casos de distribución normal y mediana al no cumplir este criterio mediante la prueba de Shapiro Wilk, se reporta así mismo desviación estándar y valores máximos y mínimos.

Se realizó un análisis de concordancia entre las variables primarias QuantIFERON-TB-Gold en tubo® y el resultado del PPD, mediante prueba de kappa.

El análisis fue realizado utilizando el paquete estadístico STATA 9.

#### **7.11 CONSIDERACIONES ÉTICAS**

Estudio el cual contempla un riesgo moderado, se trabajó bajo los lineamientos internacionales para la Investigación con humanos. Aprobado por el comité de ética del Hospital Infantil de México "Federico Gómez".

#### **7.12 CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD.**

Este estudio contempló toma de muestra biológica y aplicación de PPD, manejándose de acuerdo a los estándares internacionales y se encuentra aprobado por el comité de bioseguridad del Hospital Infantil de México "Federico Gómez".

## VIII. RESULTADOS

En este estudio se incluyeron 56 pacientes con antecedente de contacto a tuberculosis y otros con factores de riesgo para adquirir enfermedad tuberculosa como pacientes con VIH, o enfermedades oncológicas, excluyéndose 25 pacientes y ningún paciente fue eliminado durante el estudio. De todos los ingresados al protocolo 42.9% (Frecuencia 24) pacientes fueron de sexo femenino y 57.1% (frecuencia 32) de sexo masculino (Gráfico 1). La medición de PPD a las 72 horas de aplicación el resultado fue con un total de 64.3% (frecuencia 36) negativos y 35.7% (frecuencia 20) pacientes con PPD positivos (grafica 2).

De este total de pacientes: 44 (78.6%) fueron con diagnostico de contacto de tuberculosis y 12 (21.4%) con otro diagnostico tal como VIH, Oncológico, etc.(grafica 3). La edad en meses dio una media de 74.9 meses con una desviación estándar de 57.9, la edad mínima fue de 1.32 y máxima de 204 meses.

Los resultados de quantiferon 14 (25%) positivos y 34 (60%) negativos, 8 (14.3%) fueron indeterminados (gráfica 5). Al determinar la correlación entre el PPD y quantiferon mediante Tau de Kendall se encontró una significancia de 0.43.

Al valorar el grado de acuerdo entre las variables antes descritas encontramos un 69.64% con un kappa de 0.42 y significancia de 0.0000.

Al dividir nuestra población en estudio y determinar la concordancia entre el PPD y quantiferon mediante la prueba de kappa en los pacientes con antecedente de contacto se encontró una concordancia del 70.45% , kappa 0.45% y una significancia del 0.0003

## IX. DISCUSIÓN

En este estudio se describe una comparación directa entre la prueba de tuberculina y la medición de tres antígenos específicos para *M. tuberculosis*, mediante el estudio de Quantiferon Gold,(19). Cuyas guías reportan una especificidad de 70% y sensibilidad de 90% para determinar infección por *M. tuberculosis*.

En nuestro estudio encontramos una concordancia entre PPD y quantiferon del 69.64% (kappa de 0.45), en los pacientes específicamente con antecedente de contacto tuberculoso, lo que consideramos como una relación discreta y buena, comparado con estudios realizados en adultos, como lo ya descrito por Menzies y cols.(22) donde realizan una correlación entre la prueba de tuberculina y la prueba de interferon en pacientes que fueron contactos de tuberculosos, encontrando una correlación kappa de 0.38 (Concordancia de 52.3%).

En el metanálisis de Richeldi y cols al dividir los pacientes en vacunados y no vacunados con BCG se reporta una concordancia entre quantiferon y prueba de tuberculina positiva del 93%, sin embargo en nuestra investigación encontramos una concordancia del 69.64%, pero no se utilizó la variable de vacunación con BCG. Cabe mencionar que en estos estudios, se tomó en cuenta el tiempo de exposición ó contacto con el paciente tuberculoso, lo cual fue corroborado que a mayor período de exposición mas concordancia entre PPD y prueba de quantiferon.

## **X. CONCLUSIÓN**

Nuestro estudio nos permite determinar una concordancia adecuada entre la prueba de la tuberculina y el quantiferon, por lo que podemos concluir que realmente a pesar de los estudios previos no ofrece ninguna ventaja el uso del quantiferon, siendo éste más costoso y requiere un tiempo de procesamiento de la muestra más largo, no permitiéndonos recomendar esta prueba en forma rutinaria.

Sin embargo nuestro tamaño muestral incluido es muy pequeño, y probablemente los resultados se deban a éste así como a la falta de aleatorización que no nos permite la distribución equilibrada de las variables confusoras.

Por lo que consideramos la necesidad de nuevos estudios en población Mexicana que nos permitan establecer si realmente existe una concordancia.

## XI. REFERENCIAS

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Control: Surveillance, Planning, Financing. WHO Report 2004, Geneva. Switzerland.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Treatment of tuberculosis. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2003;52(RR-11):36-41.
3. Colditz GA, Brewer TF, Berkey CS, y cols. Efficacy of BCG vaccine in the prevention of tuberculosis. JAMA 1994;271:698-702.
4. Nardell EA. Environmental infection control of tuberculosis. Semin Respir Infect 2003;18:307-319.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2000;49(RR-6):1-5.
6. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific Immune-based diagnosis of tuberculosis. Lancet 2000;356:1099-1104.
7. Fine PE, Bruce J, Ponnighaus JM, y cols. Tuberculin sensitivity; conversion and reversions in a rural African population. Int J Tuberc Lung Dis 1999;3:962-975.
8. Johnson JL, Nyole S, Okwera A, y cols. Uganda-case Wetem Reserve University Research Collaboration. Instability of tuberculin and Candida skin test reactivity in HIV-infected Ugandans. Am J Respir Crit Care Med 1998;158:1790-1796.
9. American Academy of Pediatrics, Tuberculosis. In: Red book: 2003 report of the Committee on Infectious Diseases. 25<sup>th</sup> edition. EJK Grove (IL): Pickering LK;2003.p.642-660.
10. VanPinxteren LA, Ravn P, Agger EM, y cols. Diagnosis of tuberculosis based on two specific antigens ESAT-6 and CFP-10. Clin Diagn Lab Immunol 2000;7:155-160. vanPinxteren LA, Ravn P, Agger EM, y cols. Diagnosis of tuberculosis based on two specific antigens ESAT-6 and CFP-10. Clin Diagn Lab Immunol 2000;7:155-160.
11. Furlin JJ, Jonson JL. Recent advances in the diagnosis and management of tuberculosis. Curr Opin Pulm Med 2005;11:189-194.

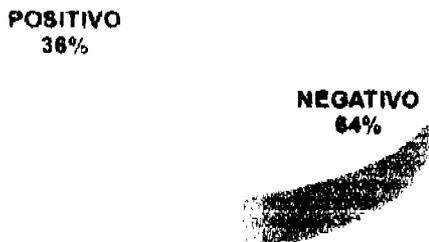
12. Ewer K, Deeks J, Alvarez L, Bryant G, Lalvani A., y cols. Comparason of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak. *Lancet* 2003;361:1168-1173.
13. Brock I, Weldingh K, Lillebaeck T, Follmann F, Andersen P. Comparason of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:65-69.
14. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, y cols. Epecific detection of tuberculosis infection: an Interferon-gamma based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:59-64.
15. Ravn P, Munk ME, Andersen AB, Lundgren B., y cols. Prospective evaluation of a whole-blood test using *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens ESAT-6 and CFP-10 for diagnosis of active tuberculosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005;12:491-496.
16. Hesselting AC, SCAF HS, Gle RP, Stara JR, Beyers N. A critical review of diagnostic approaches used in the diagnosis of childhood tuberculosis. *Int J Tuber Lung Dis* 2002;6(12):1038-1045.
17. Ferrara G, Losl M, Meacci M, Meccugni B, y cols. Routine hospital use of a new commercial whole blood Interferon- $\gamma$  assay for the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:631-635.
18. American Thoracic Society. Diagnostic Standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1376-1395.
19. Bass JJr. The tuberculline test. In L. Reichman and E. Herschfield, editors. *Tuberculosis*. Marcel Dekker, New York. 1993:139-148.
20. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparason of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:65-69.

## XII. ANEXOS

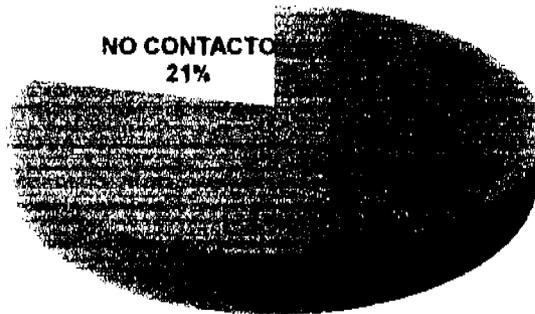
Gráfico 1 Distribución por sexo de la población estudiada



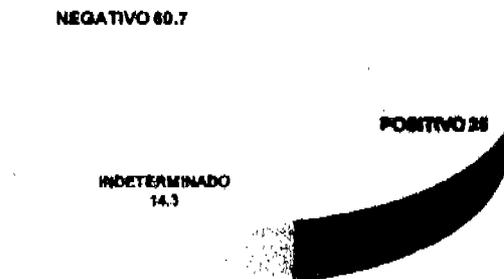
Gráfico 2 Porcentaje de PPD



**Gráfico 3 Porcentaje de distribución de acuerdo a diagnóstico.**



**Gráfico 4 Resultados de Quantiferon**



## **Forma de Consentimiento Informado Escrito.**

**Título del estudio: *Estudio comparativo entre el ensayo con Interferón-gamma en sangre total con la prueba de tuberculina para detectar infección por Mycobacterium tuberculosis en población pediátrica.***

Registro HIM:

Iniciales del paciente: \_\_\_\_\_

Investigadores: Dr. José Luis Lezana Fernández

Dra. Ruth S. Aldana Verga.

Depto. De Neumología y Fisiología Pulmonar

Hospital Infantil de México Federico Gómez

Dr. Márquez 162, Col. Doctores.

C.P. 06720, México D.F.

### **Introducción**

Su hijo(a) está siendo invitado a participar en un estudio de investigación clínica y este formulario de consentimiento le proporcionará información acerca del estudio de investigación que le será explicado. Si usted desea formar parte de un estudio de investigación, debe conocer su finalidad, los exámenes que se realizarán sus riesgos y sus beneficios. Se le pedirá que lea este formulario de consentimiento y que le consulte al médico responsable del estudio cualquier término que no entienda. Este proceso se denomina "consentimiento informado". Este formulario de consentimiento podría contener palabras que usted no comprenda; solicite al médico o al personal del estudio que le expliquen las palabras o la información que no entienda. Una vez que comprenda el estudio y si decide que su hijo(a) participe, se le pedirá que firme

este formulario de consentimiento entregándosele una copia, la cual deberá conservar en su poder.

#### Finalidad del estudio

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa, contagiosa producida por una bacteria conocida como *Mycobacterium tuberculosis*, y que ataca primariamente los pulmones. Esta enfermedad constituye actualmente un grave problema de salud a nivel mundial con mas de 10 millones de individuos infectados, de los cuales entre el 15 y 25% son niños, principalmente aquellos que viven en países en vías de desarrollo como el nuestro y que provoca la muerte de casi 2 millones de personas cada año a nivel mundial.

Para evaluar si su hijo(a) a tenido contacto en algún momento de su vida con el bacilo que provoca la tuberculosis, se utiliza actualmente una prueba conocida como PPD.

Este estudio de investigación tiene la finalidad de probar en su hijo(a) un nuevo método de diagnóstico para evaluar si su hijo(a) tuvo contacto en algún momento de su vida con el bacilo tuberculoso llamado QuantiFERON-TB-Gold en tubo® el cual ya ha sido aprobado en varias poblaciones a nivel mundial,.

Este nuevo método para diagnóstico de contacto con el bacilo de la tuberculosis será comparado con el método que habitualmente se ha utilizado, el PPD.

Aproximadamente 350 pacientes que acuden al Hospital Infantil de México Federico Gómez o que se encuentran hospitalizados en él, participaran en este estudio.

Su usted decide que su hijo(a) puede participar en este estudio, deberá permitir que se le realicen estas dos pruebas, las cuales no Interfieren con los medicamentos que el(ella) toma habitualmente, ni con los estudios y exámenes que actualmente se están realizando en el hospital.

## Plan de estudio

Durante el estudio se realizarán un total de 3 visitas, todas ellas en el Hospital.

La primera visita consiste en una evaluación de selección incluyendo un interrogatorio completo y antecedente de aplicación de vacuna contra la tuberculosis (BCG) o aplicación previa de una prueba de PPD. Se le preguntará si su hijo(a) ha convivido con pacientes tuberculosos y cual es el motivo por el que acude al hospital. Si su hijo(a) reúne todos los requisitos de Ingreso y acepta participar en el estudio, se le realizarán los procedimientos diagnósticos rutinarios, consistentes en; un cuestionario con una serie de preguntas que deberá contestar, se le aplicará la prueba de PPD y se le tomará una muestra de sangre para el nuevo método que se está probando, el QunTIFERON-TB-Gold en tubo®.

Tendrá que realizar 2 visitas adicionales a las 48 y 72 horas de la visita Inicial. Durante estas visitas solamente se realizará la lectura de la reacción provocada por la aplicación del PPD en el antebrazo derecho.

La participación de su hijo(a) en el estudio es de 3 días durante los cuales usted tendrá la responsabilidad de acudir puntualmente al Hospital y asistir a todas las visitas planeadas.

## Procedimientos del estudio

### Visita 1

En su primera visita, tendrá que leer y firmar un consentimiento informado escrito, unos formularios de autorización y su hijo(a) deberá también acceder a su ingreso en este estudio a través de un Asentimiento. Se revisará la historia clínica de su hijo(a) sobre su estado de salud, uso actual y pasado de medicamentos, enfermedad actual, antecedentes de enfermedades, aplicación de vacuna contra la tuberculosis (BCG) y posible convivencia con adultos u otras personas con tuberculosis. Los investigadores del estudio le harán un examen físico que incluirá la medición de su peso y estatura. Se le aplicarán

dos cuestionarios con preguntas sencillas. Se le aplicará en la cara anterior del antebrazo derecho una inyección intradérmica (entre la piel) conocida como prueba de la tuberculina o PPD y se tomará una muestra de sangre (el equivalente a 2 o 3 cucharaditas aproximadamente) para hacerle la prueba de QuantiFERON-TB-Gold en tubo®.

## Visita 2

Su hijo(a) deberá acudir nuevamente al Hospital 48 horas posteriores a la visita 1. En esta visita solamente se medirá la reacción que provocó la aplicación de la tuberculina o PPD, esta prueba provocará una roncha (induración) en el sitio de aplicación.

## Visita

Su hijo(a) deberá acudir nuevamente al Hospital 72 horas posteriores a la visita 1. En esta visita se medirá por segunda ocasión la reacción que provocó la aplicación de la tuberculina o PPD, esta prueba provocará una roncha (induración) en el sitio de aplicación, la cual se medirá en milímetros.

## Posibles beneficios

Es posible que la participación de su hijo(a) en este estudio no le traiga ningún beneficio directo. Sin embargo servirá para conocer el funcionamiento y resultados de un nuevo método para detectar contacto con el bacilo de la tuberculosis, el cual a diferencia del PPD en el que se requieren de 2 a 3 visitas, el nuevo método solamente requiere de un visita.

La aplicación del PPD en la cara anterolateral del brazo derecho puede ocasionar molestias como dolor y comezón en el sitio de la aplicación y generar una roncha de tamaño variable que desaparece por sí sola.

La extracción de sangre puede producir molestias, sangrado o hematomas (moretones) en el sitio donde la aguja entra en la piel. Rara vez, la extracción de sangre puede provocar desmayos o infección.

### Participación voluntaria

La participación de su hijo(a) en este estudio es voluntaria. Si usted acepta que su hijo(a) ingrese al estudio, pero más adelante decide que es mejor no hacerlo, usted podrá retirar su consentimiento y dejar de participar en cualquier momento, incluso una vez iniciado el estudio. En cualquier caso, la atención médica actual y futura para su hijo(a) no se verá afectada. Asimismo, su médico podría optar por retirar a su hijo(a) del estudio en cualquier momento si esto es lo más conveniente para él/ella y ofrecerle otras alternativas para su estudio.

### Confidencialidad

Los resultados de este estudio le serán entregados un mes posterior a la última visita (visita 3) y serán confidenciales. Los registros médicos que identifican a su hijo(a) y el formulario de consentimiento firmado, podrán ser examinados y/o copiados para fines normativos o de investigación por los médicos encargados del estudio, autoridades de la Secretaría de Salud y los Comités de Investigación y Ética Institucionales.

Todas aquellas personas que tengan acceso a los registros de su hijo(a) están sujetos a la confidencialidad. Todos sus registros serán codificados con un número de identificación, para proteger su identidad. Si se publican los resultados del estudio, la identidad de su hijo(a) se mantendrá confidencial. La información de cada paciente se guardará en el expediente clínico del Hospital Infantil de México Federico Gómez conforme a la normatividad del Hospital.

### Costo financiero y remuneración

Todos los materiales relacionados con la aplicación del PPD y el nuevo método de diagnóstico en investigación (Quantiferon-TB-Gold en tubo®) serán gratuitos. Ni usted o su hijo(a) recibirán algún tipo de remuneración o pago por su participación en el estudio.

### Otras informaciones

Su médico o los Investigadores podrían retirar a su hijo(a) del estudio sin su consentimiento por no satisfacer los requerimientos del mismo

Si durante el estudio se dan a conocer nuevos hallazgos que podrían influir en la decisión de seguir participando, el equipo de investigación a través del coordinador médico del estudio le comunicará esta información.

### A quien contactar

Si su hijo(a) sufre algún problema médico en cualquier momento durante el estudio, debe ponerse en contacto con el coordinador médico o con el hospital para que le indiquen lo que debe hacer. Si tiene alguna pregunta sobre el estudio, debe llamar a:

Dr. José Luis Lezana Fernández

Dra. Ruth S. Aldana Vergara

Hospital Infantil de México Federico Gómez

Tel. 52289917 ext. 1228 y 1544.

Si necesita información adicional respecto a los derechos de su hijo(a) como paciente, ya sea antes, durante o después de este estudio, puede llamar a:

Dra. Celia Alpuche

Subdirección de Investigación

Hospital Infantil de México Federico Gómez

Tel. 52289917 ext. 1482.

**Autorización y firma del Consentimiento Informado**

**Título del estudio: *Estudio comparativo entre el ensayo con Interferón-gamma en sangre total con la prueba de tuberculina para detectar infección por Mycobacterium tuberculosis en población pediátrica.***

Registro HIM:

Iniciales del paciente \_\_\_\_\_

Investigadores; Dr. José Luis Lezana Fernández.

Dra. Ruth S. Aldana Vergara

Dr. José Karam Bechara

Yo \_\_\_\_\_, leí (o alguien me leyó) la información contenida en este formulario de consentimiento. Una de las personas a cargo del estudio me explicó lo que sucederá si mi hijo(a) o protegido legal participa en este estudio. Me hablaron en palabras y en un idioma que puedo comprender. Tuve la oportunidad de hacer todas mis preguntas a las personas encargadas de este estudio y me dieron todas las respuestas que necesito.

Me dijeron que están invitando a participar a mi hijo(a) o protegido legal a participar en este estudio de investigación. Me informaron de la finalidad, los procedimientos, los posibles riesgos y los beneficios del estudio y de los demás estudios. Me informaron con claridad, que mi hijo(a) va a ser sometido(a) a una serie de estudios para descartar o confirmar que el(ella) a tenido contacto con el bacilo que provoca la tuberculosis.

Una vez comprendido lo anterior, acepto de voluntad propia que mi hijo(a) \_\_\_\_\_, participe en este estudio de investigación. Esto significa que leí este documento y comprendo los riesgos, comprometiéndome a regresar al hospital para cumplir con las visitas señaladas y los exámenes necesarios.

Me explicaron que mi hijo(a) no está obligado(a) a participar en este estudio y que aunque decida en este momento que el/ella participe, puedo cambiar de idea y retirarlo(a) del estudio en cualquier momento. Entiendo que si mi hijo(a) no participa o suspendo su participación, seguirá recibiendo el tratamiento habitual para su enfermedad sin ninguna desventaja y se le realizarán los estudios necesarios para llegar a un diagnóstico.

Estoy dispuesto a cumplir con las instrucciones del médico, y le notificaré inmediatamente si creo que mi hijo(a) tiene algún síntoma imprevisto o fuera de la común. Mi firma en este documento no significa que yo esté renunciando a ninguno de los derechos legales de mi hijo(a) y que me entregarán una copia firmada de este formulario de consentimiento. Autorizo la liberación de expedientes médicos de mi hijo(a) al patrocinador, su representante legal, las autoridades regulatorias y los Comités de Investigación y Ética.

Nombre del paciente que indica el consentimiento	Fecha
Nombre y Firma de la madre o representante legal	Fecha
Nombre y Firma del padre o representante legal	Fecha
Nombre y Firma del testigo No.1	Fecha
Domicilio	Parentesco

<b>Nombre y Firma del testigo No.2</b>	<b>Fecha</b>
<b>Domicilio</b>	<b>Parentesco</b>
<b>Nombre y Firma del investigador</b>	<b>Fecha</b>
<b>Nombre y firma de la persona que explica el consentimiento</b>	<b>Fecha</b>

**Forma de Asentimiento para participar en un estudio de Investigación clínica**

**Título del estudio:** *Estudio comparativo entre el ensayo con Interferón-gamma en sangre total con la prueba de tuberculina para detectar infección por Mycobacterium tuberculosis en población pediátrica.*

**Registro HIM:** \_\_\_\_\_ **Iniciales del paciente:** \_\_\_\_\_

**Investigadores:** Dr. José Luis Lezana Fernández

Dra. Ruth S. Aldana Vergara

Dr. José Karam Bechara

Depto. De Neumología y Fisiología Pulmonar

Hospital Infantil de México Federico Gómez

Dr. Márquez 162, Col. Doctores, C.P. 06720

Me invitan a participar en un estudio de investigación para probar un nuevo estudio de laboratorio que sirve para detectar si he estado en contacto con el bacilo que provoca la tuberculosis, con la finalidad de obtener más información sobre este nuevo método de diagnóstico que puede resultar mejor que el usado hasta ahora. Comprendo que este estudio se hará para ver si este nuevo método diagnóstico resulta útil o si resulta algún problema por su uso.

Entiendo que mi médico tratante desea conocer el funcionamiento y resultados de este nuevo método diagnóstico para ver si he tenido contacto con el bacilo de la tuberculosis y que deberé acudir al Hospital durante 3 días, durante los cuales me realizarán los dos estudios y una serie de preguntas. En la primera visita tendré que responder algunas preguntas en dos formularios, se me realizará un examen físico completo y me aplicarán una prueba en el antebrazo derecho llamada prueba de la tuberculina o PPD, además me tomarán una muestra de sangre (aproximadamente 2 o 3 cucharaditas) para ensayar un nuevo método diagnóstico llamado QuantIFERON-TB-Gold en tubo®. Deberé acudir al Hospital nuevamente a las 48 y 72 horas de la visita 1 (visitas 2 y 3)

para que estas visitas, los médicos responsables del estudio medirán en la piel de mi antebrazo la reacción que provocó la aplicación de la prueba de tuberculina o PPD

Entiendo que la aplicación de la prueba de tuberculina o PPD, así como la toma de sangre. Entiendo que es posible que este nuevo método diagnóstico no me ayude para detectar una infección por la bacteria que ocasiona la tuberculosis; pero si contribuirá a un mejor conocimiento de esta enfermedad en los niños mexicanos.

Si no quiero participar en este estudio, podré seguir realizándome los estudios que mi médico indique y que mi atención médica será siendo la misma. Entiendo que en cualquier momento puedo decidir dejar de participar en este estudio y que nadie me reclamará por ello.

He pensado si quiero participar en este estudio y para ello el doctor ha contestado todas mis preguntas, obteniendo siempre una respuesta. Entiendo que si tengo otras dudas o preguntas en el futuro puedo llamar al Dr. José Luis Lezana Fernández al teléfono 52289917 extensiones 1228 y 1544 o a cualquiera de sus colaboradores.

Elige una opción:

Quiero participar en este estudio

No quiero participar en este estudio

Nombre del paciente que indica el asentimiento	Fecha
Nombre y Firma de la madre o representante legal	Fecha

Nombre y Firma del padre o representante legal	Fecha
Nombre y Firma del testigo No.1	Fecha
Domicilio	Parentesco
Nombre y Firma del testigo No.2	Fecha
Domicilio	Parentesco
Nombre y Firma del Investigador	Fecha
Nombre y firma de la persona que explica el consentimiento	Fecha

**HOJA DE REGISTRO DE DATOS DEL PACIENTE**

**HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GOMEZ**

**Estudio comparativo entre el ensayo con Interferón-gamma en sangre total con la prueba de tuberculina para detectar infección por *Mycobacterium tuberculosis* en población pediátrica.**

Registro HIM: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nombre paciente: \_\_\_\_\_

Fecha Consentimiento Informado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Exp.: \_\_\_\_\_

Género:  F  M Fecha de Nacimiento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_

Lugar de Origen: \_\_\_\_\_

Nombre del Médico: \_\_\_\_\_

Dirección y teléfono: \_\_\_\_\_

Diagnósticos principales: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

---

Contacto TB:

 SI NO

Padre

Madre

Otro

Dx confirmado

PPD

Rx

BAAR

Cultivo

Otro

---

Aplicación previa de PPD:

 NO SI

Criterios: Inclusión

 SI

Exclusión

 SI

Eliminación

 SI NO NO NO

---

Resultado PPD en mm.

48 hrs.

72 hrs.

QuantIFERON-TB: Control negativo  Control positivo

ESAT-6  CFP-10

Resultado: positivo  negativo  Indeterminado

---

Completo estudio: SI  NO  exclusión   
eliminación

Causa de exclusión o eliminación: \_\_\_\_\_

---

---

Fecha de terminación: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nombre y firma del investigador:

---