



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

SECRETARÍA DE SALUD

**INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES
RESPIRATORIAS
"ISMAEL COSÍO VILLEGAS"**

ESPECIALIDAD EN:
NEUMOLOGÍA

PREVALENCIA DE INFECCIÓN LATENTE POR M. TUBERCULOSIS EN
POBLACIÓN DE ALTO RIESGO OCUPACIONAL DEL INER

TESIS
PARA OBTENER EL GRADO DE MÉDICO ESPECIALISTA EN:
NEUMOLOGÍA

PRESENTA
DR. MAYNOR JOSUÉ PALMA CARDONA

TUTOR Y ASESOR:
DR. JOAQUIN ALEJANDRO. ZÚÑIGA RAMOS



CIUDAD DE MÉXICO, AGOSTO 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

**SECRETARÍA DE SALUD
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
“ISMAEL COSÍO VILLEGAS”
NEUMOLOGÍA**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

DR. JUAN CARLOS VÁZQUEZ GARCÍA
DIRECTOR DE ENSEÑANZA

DRA. MARGARITA FERNÁNDEZ VEGA
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA

DRA. MARÍA DEL CARMEN CANO SALAS
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE POSGRADO

DR. JOAQUIN ALEJANDRO. ZÚÑIGA RAMOS.
DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA.
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
“ISMAEL COSÍO VILLEGAS”

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS:

- A mis padres por el apoyo incondicional para lograr y alcanzar esta meta.
- Al Dr. Joaquín A. Zúñiga Ramos por ayudarme, enseñarme y guiarme para concluir este trabajo de tesis.
- A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias porque creyeron en mí y me permitieron ser parte de esta gran familia de médicos especialistas en Neumología.

¡Gracias!

ÍNDICE

1. Introducción	5
2. Antecedentes	7
3. Justificación	11
4. Pregunta de Investigación	12
5. Hipótesis	12
6. Objetivos	12
7. Material y métodos	13
7.1 Diseño de Estudio	13
7.2 Población de Estudio	13
7.3 Metodología	14
7.4 Procesamiento y análisis estadístico	17
8. Implicaciones éticas	17
9. Resultados	17
10. Discusión	23
11. Conclusiones	25
12. Referencias Bibliográficas	26
13. Anexos	28

1. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis (TB) es un problema de salud pública en todo el mundo que afecta a 9.2 millones de personas anualmente de las cuales el 80% proviene de los países en vías de desarrollo, con más de 2 millones de fallecimientos (1). En México se registran anualmente un estimado de 15,000 casos nuevos de TB y alrededor de 2,000 defunciones, con un promedio de edad de fallecimiento de 54 años (2,3).

Las formas más frecuentes de presentación de la TB incluyen la enfermedad activa (TBA) y la infección latente (TBL), esta última se caracteriza por no transmitirse, ausencia de sintomatología clínica, bacteriológica y radiológica, de manera que la bacteria persiste en el organismo manteniendo una baja o nula actividad replicativa (4).

En base a la prueba de tuberculina (TST), prueba cutánea de hipersensibilidad retardada al Derivado Proteico Purificado (PPD por sus siglas en inglés), se estima que un tercio de la población mundial tiene una infección tuberculosa latente y por lo tanto en riesgo de progresión a enfermedad activa (1,4). La prueba TST no permite diferenciar entre infección, enfermedad y sensibilización con micobacterias no tuberculosas (MNTs) (5).

A partir de la última década se principiaron a desarrollar y a utilizar métodos de detección de infección como los test inmunológicos in vitro en sangre, conocidos como IGRAs (Interferon-Gamma Release Assay), basados en la producción de IFN- γ por células T estimuladas con ESAT-6 (Early Secretory Antigen Target-6) y el CFP-10 (Culture Filtrate Protein 10) y dos antígenos codificados en la región de diferencia 1 (RD1) perdido en la vacuna BCG durante su atenuación y que se encuentran casi exclusivamente en el complejo *M. Tuberculosis*. Ambos actúan estimulando la liberación medible de INF- γ en la mayoría de las personas infectadas, pero ausentes en las cepas de la vacuna BCG y en la mayoría de las micobacterias no tuberculosas (5,6). Entre las ventajas de los IGRAs en comparación con la prueba de la tuberculina se encuentran una mayor especificidad y menos reacciones cruzadas con la vacunación BCG.

Además la interpretación es menos subjetiva y se obtienen los resultados de forma rápida y confidencial. Sin embargo, ESAT-6 y CFP- 10 están presentes en *M. kansasii*, *M. szulgai* y *M. marinum* de manera que la sensibilidad a estos organismos podría contribuir a la liberación de INF- γ en respuesta a estos antígenos causando resultados falsos positivos, y tienen la limitante que no permiten hacer la diferencia entre infección latente y enfermedad (5, 6,7).

Hasta el día de hoy no se cuenta con métodos diagnósticos y/o biomarcadores adecuados para el diagnóstico de TBL, ni marcadores que evalúen el riesgo de progresar a enfermedad activa. De ahí la importancia de utilizar las pruebas biométricas de latencia y la tuberculina para aportar datos cualitativos y cuantitativos a la discusión y análisis que permitan proponer nuevas opciones al diagnóstico temprano y tratamiento oportuno de la TB.

Estudios realizados en población de alto riesgo ocupacional (trabajadores de la salud) reportan una prevalencia de TBL de 14.1 y 29.5 utilizando IGRAs (Quantiferon TB gold) y PPD respectivamente como métodos de diagnóstico, sin embargo la mayoría de estos estudios fueron realizados en países con baja incidencia de TB (<1 casos por 1,000 habitantes) y no reflejan la realidad para un país con alta incidencia de TB como México. (8)

En México no existe mucha información acerca de la prevalencia de TBL diagnosticada utilizando pruebas de IGRAs (Quantiferon TB gold) en población abierta y en población de alto riesgo ocupacional.

Para desarrollar la presente investigación clínica y de laboratorio de tipo descriptivo, se formuló la siguiente pregunta básica de investigación: ¿Cuál es la prevalencia de *M. tuberculosis* en la población de alto riesgo ocupacional (médicos residentes de neumología adultos) de Instituto de Enfermedades respiratorias (INER) “Ismael Cosío Villegas”?

Hipótesis propuesta: el personal de alto riesgo ocupacional (médicos residentes de neumología adultos) del INER tendrá una prevalencia similar de infección latente por *M. tuberculosis* con QuantiFERON-TB Gold y TST.

2. ANTECEDENTES

Durante los últimos 100 años, la prueba más utilizada para el diagnóstico de la TBA y TBL ha sido la prueba cutánea de hipersensibilidad retardada al Derivado Proteico Purificado (PPD, por sus siglas en inglés). Esta prueba, también conocida como tuberculina (TST por sus siglas en inglés), es aún el principal método utilizado en México para identificar la exposición a *M. Tuberculosis* (2,3).

La prueba no permite diferenciar entre infección, enfermedad y sensibilización con micobacterias no tuberculosas (MNTs) (5). Esto provoca una disminución de la especificidad de la prueba, ya que individuos sensibilizados por exposición previa a otras micobacterias o vacunados contra la TB también responden inmunológicamente al PPD.

A partir de la última década del siglo pasado, los avances en el campo de la genómica y las técnicas de inmunodetección han permitido el desarrollo de sistemas de diagnóstico basados en la producción de IFN- γ por células T estimuladas con ESAT-6 y CFP-10, dos antígenos codificados en la región de diferencia 1 (RD1) que se perdió en la vacuna BCG durante su atenuación y se encuentran casi exclusivamente en el complejo *M. Tuberculosis* (5,6).

Los ensayos de liberación de interferón gamma (IGRAs por sus siglas en inglés interferon- γ -release assays) han surgido como una alternativa para la detección de TB. Se basan en 5 componentes esenciales: 1. Antígenos específicos *M. tuberculosis*; 2. Células presentadoras de antígenos; 3. Células T; 4. Paso de incubación; y un 5. Lector de biomarcador de reconocimiento inmune (7,8).

1. Antígenos: La especificidad del ensayo con IFN- γ se vincula primero con los antígenos. El test comercial utiliza 16 – 26 péptidos de *Mycobacterium tuberculosis*, proteínas ESAT-6, CFP-10 y TB7.7.
2. Células presentadoras de antígenos (CPA) expresan moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) con especificidad para los antígenos de células T. Si los receptores de células T reconocen el antígeno péptido del MHC, ambos, las células T y las CPA se activan. Si la persona a la que se le realiza la prueba tiene un mal ajuste entre genotipos

HLA y los antígenos usados en la prueba, el ensayo de IFN- γ se espera que se exprese poco.

3. Células T: un alto número de células T de memoria central específicas para péptidos presentes en las CPA's garantiza una activación inmune fuerte in vitro, la presencia de células T reguladoras amortiguan esta respuesta.
4. Incubación: para que se produzca la activación inmune las células necesitan tiempo y calor por lo que las pruebas comerciales incuban durante 16 – 24 hrs a 37 °C.
5. Biomarcador de lectura: las pruebas comerciales monitorean los grados de activación inmune por la medición del ensayo de IFN- γ . Si el resultado es más alto que el punto de corte el test se considerará positivo, si hay una pequeña o nula respuesta, el test se interpreta como negativo. Como en cualquier respuesta inmune, varias citoquinas y quimiocinas se expresan como resultado de activación inmune incluyendo la quimiocina IP-10.

En la actualidad se encuentran disponibles a nivel local versiones comerciales como el QuantiFERON-TB Gold (Cellestis, Carnegie, Australia) y el T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, Oxford, United Kingdom (7)). Estas pruebas de diagnóstico tienen mayor especificidad, especialmente en población vacunada con BCG. Diversos estudios han demostrado que el QuantiFERON-TB no presenta interferencia por la vacunación con BCG y puede diferenciar la infección con *M. tuberculosis* de la sensibilización con MNTs (5,6,7). El Ensayo QuantiFERON-TB-Gold In Tube (QFT-GIT) (Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia) en un sistema comercial que se conforma por 3 tubos donde se coloca la sangre periférica de los individuos; el primer tubo incluye 3 antígenos de *M. tuberculosis* previamente descritos como muy inmunogénicos (ESAT-6, CFP-10 y TB 7.7), otro tubo contiene fitohemaglutinina (un mitógeno inespecífico que sirve como control positivo) y el tercer tubo no contiene ningún reactivo (control negativo).

En este ensayo se coloca 1 mL de sangre en cada tubo, y después de mezclar se coloca en una incubadora a 37°C durante 18-24 horas. Posteriormente se centrifuga para separar el plasma se cuantifican los niveles de IFN- γ por el método

de ELISA en cada uno de los tubos. La interpretación de este método se basa en la comparación de los niveles de IFN- γ del tubo con los diferentes antígenos de *M. tuberculosis* con aquellos niveles obtenidos en los controles positivo y negativo; el resultado se genera como positivo, negativo o indeterminado.

En países con baja incidencia de tuberculosis como Estados Unidos y Europa Occidental estas pruebas de liberación de IFN- γ han permitido comenzar a sustituir la prueba de PPD para el diagnóstico de TBL (7,9). No obstante, aún se cuestiona el uso de ESAT-6 y CFP-10 como marcadores de latencia, toda vez que estas proteínas también se expresan regularmente durante la fase activa de crecimiento microbiano, por lo que la reactividad hacia estas proteínas constituye de momento un indicador de infección tuberculosa.

Los ensayos de liberación de interferón tiene muchas ventajas sobre el test de tuberculina: la prueba requiere solamente 1 visita del paciente y estos ensayos son pruebas ex vivo lo cual reduce el riesgo de efectos adversos y elimina el potencial incremento cuando se repite la prueba. De cualquier forma los IGRAs tiene importantes desventajas, incluyendo el costo del material requerido en el laboratorio y el requerimiento de la extracción sanguínea con el subsecuente cuidado de mantener viables los linfocitos, además la variabilidad de la prueba cuando se repite después de meses o años no ha sido bien estudiada.

Adicional a I IFN- γ , muchas citocinas y quimiocinas han sido investigadas como biomarcadores potenciales para infección por *M. Tuberculosis* y es estado de la enfermedad. Diversos estudios han descrito que los niveles de varias citocinas incluyendo interleucina 6 (IL-6), IL-10, IL-15, proteína 10 inductora de interferón gamma (IP-10) y proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-2), son significativamente mayores en pacientes con TB que en controles sanos, además estos hallazgos sugieren un papel importante en la patogénesis de la enfermedad no son suficientes para el diagnóstico de tuberculosis activa versus tuberculosis latente por lo que se ha hecho necesario el diseño de un biomarcador con mejor sensibilidad y especificidad para lograr discriminar entre enfermedad activa y latente (8,9,10,11).

En 2006, Morten Ruhwald, Martine G Aabye & Pernille Ravn proyectaron una serie de citocinas y quimiocinas por su potencial como marcadores de respuesta inmune mediada por células en respuesta a antígenos específicos de *M. tuberculosis* en sobrenadantes de QFT-IT, y encontraron que IP-10 se expresa en grandes cantidades en pacientes con TB activa pero no en controles no expuestos. Existe más evidencia que ha fundamentado este descubrimiento y más de 40 biomarcadores adicionales han sido estudiados como potenciales métodos diagnósticos. De todos los marcadores investigados pareciera que IP-10 es el que se expresa más consistentemente en respuesta a la exposición al antígeno (11,12)

La producción de IP-10 es principalmente inducida por IFN- γ y como resultado de esto tiene un papel importante en el desarrollo de inmunidad protectora de tipo Th1, promoviendo infiltrados celulares en áreas de infección (11,12). IP-10 se induce en respuesta a infecciones por patógenos, en el caso de tuberculosis se ha observado que la expresión de IP-10 aumenta de manera significativa en infección activa.

IP-10 se produce en grandes cantidades en pulmón de pacientes con tuberculosis activa (8) así como en sangre periférica, lo cual sugiere que puede ser útil como un posible biomarcador de infección por *M. tuberculosis* en sujetos de alto riesgo.

Las bases inmunológicas para IP-10 como un marcador de lectura en ensayos de inmunidad mediada por células muestra que IP-10 es una quimiocina pequeña expresada por células presentadoras de antígenos y el conductor principal de la respuesta inmune proinflamatoria. IP-10 se expresa por células infectadas con virus y bacterias pero también puede ser inducida a niveles altos como parte de la respuesta inmune adaptativa (13,14).

En este caso, la secreción de IP-10 se inicia cuando las células T reconocen los péptidos específicos presentados por una CPA.

Una diferencia importante de IP-10 comparada con los típicos marcadores de respuesta celular como IFN- γ e IL-2 es que IP-10 se expresa en niveles mucho más altos y como IP-10 es una molécula 2.5 veces más pequeña que IFN- γ (7.4 vs 18.8 kD), esta diferencia es aún mayor a nivel molecular cuando se determina

con tecnología de fase sólida como un ELISA o pruebas de inmunoprecipitación (13,14).

Estudios previos han sugerido que IP-10 podría ser un biomarcador de utilidad para complementar las pruebas de producción de IFN- γ en sujetos con tuberculosis latente.

3. JUSTIFICACIÓN

La tuberculosis es un problema de salud que afecta a millones de personas en el mundo y en México. El reservorio más importante de *M. tuberculosis* son los seres humanos ya que se ha reportado que al menos un tercio de la población mundial está infectada de tuberculosis en estado de latencia y por lo tanto con riesgo de progresión a enfermedad activa. La prevalencia de tuberculosis latente entre los contactos de pacientes con TB, es variable y se sitúa entre el 35 y el 61%, dependiendo del grado de exposición y de los factores de riesgo propios del contacto.

En México se sigue utilizando la prueba de la tuberculina para la caracterización de los pacientes con TBL, sin embargo esta carece de sensibilidad y especificidad adecuadas. Hasta el día de hoy no contamos con métodos diagnósticos y/o biomarcadores adecuados para el diagnóstico de TBL, ni marcadores que evalúen el riesgo de progresar a enfermedad activa. Por lo tanto, una nueva técnica diagnóstica que sea considerada como más sensible y específica que la prueba para determinación de tuberculosis latente debería estar más estrechamente relacionada con el nivel de exposición y ser independiente del estado de vacunación (BCG).

Si bien existen otras pruebas como los IGRAs, estos no están disponibles en los centros asistenciales de salud del país, ni se han desarrollado estudios locales que aporten información sobre su utilidad, por lo que es importante realizar investigaciones para difundir la conveniencia y los aportes de estas pruebas en nuestra población. Además del diagnóstico adecuado del estado de TB latente, es necesario desarrollar métodos que permitan identificar biomarcadores de riesgo

para el desarrollo de enfermedad activa, así como marcadores de protección en individuos expuestos, así mismo es importante evaluar la utilidad de otros biomarcadores como el IP-10, para aportar datos cualitativos y cuantitativos a la discusión y análisis que permitan proponer nuevas opciones al diagnóstico temprano y tratamiento oportuno de la TB.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la prevalencia de *M. tuberculosis* en la población de alto riesgo ocupacional (médicos residentes de neumología adultos) de Instituto de Enfermedades respiratorias (INER) “Ismael Cosío Villegas”?

5. HIPÓTESIS

El personal de alto riesgo ocupacional (médicos residentes de neumología adultos) del INER tendrá una prevalencia similar de infección latente por *M. tuberculosis* con QuantiFERON-TB Gold y TST.

6. OBJETIVOS

6.1 Principal

Describir la prevalencia de tuberculosis latente utilizando la prueba de QuantiFERON-TB Gold en la población de médicos residentes de neumología adultos del INER.

6.2 Específicos

Cuantificar la producción de IFN- γ en respuesta a antígenos de *M. tuberculosis*. en médicos residentes de neumología adultos del INER

Establecer la utilidad de cuantificar la quimiona IP-10 como un indicador adicional a IFN- γ para el diagnóstico de tuberculosis latente.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 DISEÑO DEL ESTUDIO:

Experimental, Descriptivo, Prospectivo

7.1.1 Lugar del estudio.

El estudio se realizó en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) "Ismael Cosío Villegas" en la Ciudad de México.

7.1.1 Tamaño de muestra:

Debido a que la medición IFN- γ mediante el ensayo QuantiFERON-TB Gold In-Tube y la quimiocina IP-10 son biomarcadores de reciente utilidad para el diagnóstico de TB latente y que no existen estudios en nuestra población, se decidió una muestra a conveniencia de 40 sujetos.

7.2 Descripción de la población de estudio

Se reclutaron a los médicos residentes de la especialidad de Neumología Adultos del INER que aceptaron participar en el estudio.

7.2.1 Criterios de inclusión:

1. Hombres y mujeres mayores de 18 años de edad, cursando la especialidad de Neumología Adultos en el INER, dispuestos a participar en el estudio y firmar la carta de consentimiento informado.
2. Sujetos dispuestos a proporcionar las muestras de sangre necesaria para participar en el estudio.

7.2.2 Criterios de exclusión:

1. Sujetos que no deseen participar en el estudio.
2. Sujetos que no se realicen la prueba cutánea de tuberculina.

3. Sujetos con diagnóstico conocido de TB.
4. Sujetos que no estén dispuestos a proporcionar muestra de sangre necesaria para el estudio

7.2.3 Criterios de eliminación:

1. Sujetos con datos de tuberculosis activa.

7.3 METODOLOGIA:

Se invitó a participar a todos los médicos residentes de la especialidad de Neumología Adultos del INER. Se les dio a llenar un cuestionario que consta de 63 preguntas (anexo No.1) en el cual se recabaron datos personales, antropométricos, factores de riesgo exposicional, antecedente de vacunación con BCG, administración reciente de PPD y antecedentes personales patológicos. Previa autorización y firma de consentimiento informado se obtuvo una muestra de sangre (50 ml) de los médicos residentes que aceptaron participar en el estudio, dicha muestra de sangre se utilizó para medición de niveles de IFN- γ mediante ensayo QuantiFERON-TB Gold In-Tube y quimiocina IP-10, posteriormente se aplicó la prueba de tuberculina (TST) y se dio lectura a las 72 horas de la por parte del personal del área de epidemiología del INER.

7.3.1. PRUEBAS REALIZADAS

Venopunción: A todos los participantes se les extrajo una muestra de sangre para investigación (50 ml) para medición de niveles de IFN- γ mediante el ensayo QuantiFERON-TB Gold In-Tube y la quimiocina IP-10 en el laboratorio de investigación del INER

Prueba de tuberculina (TST): A todos los participantes se realizó la aplicación de PPD (Derivado Proteico Purificado) previo a la toma de muestra inicial para evitar el posible efecto de la aplicación del PPD sobre los resultados de IFN- γ y quimiocina IP-10. Se aplicó 0.1mL (5UT) de tuberculina (Turbesol, Canadá) por vía intradérmica en la cara antero externa del antebrazo izquierdo en la unión del tercio superior con el tercio medio. Se consideró positivo un diámetro de induración mayor a 10 mm a las 72 hrs.

Ensayo QuantiFERON-TB Gold In-Tube se realizó de acuerdo con las instrucciones del productor (QuantiFERON-TB Gold In-Tube, Cellestis Ltd., Carnegie, Australia). Se obtuvo sangre periférica de cada individuo y se colocó 1 mL en cada uno de los tres tubos los cuales contienen (Tubo 1: antígenos CFP-10, ESAT-6, TB 7.7; Tubo 2: Mitógeno fitohemaglutinina, control positivo; Tubo 3: Control negativo). Después de mezclar adecuadamente y de forma gentil, los tubos se colocaron en una incubadora marca Thermo Scientific, a 37°C durante 24 horas. Posteriormente los tubos se centrifugaron a 3,000 r.p.m. durante 10 min con la finalidad de aislar el plasma, el cual se recolectó y congeló a -20 °C. Posteriormente se cuantificaron los niveles de IFN- γ por el método de ELISA. La concentración de IFN- γ se obtuvo mediante la lectura de la densidad óptica a 450 nm y con un filtro de 620 nm como referencia en un equipo lector de ELISA (Bio-Rad). Los resultados se interpretaron en base a la densidad óptica (DO) obtenida la cual se resta del control positivo, los resultados se expresaron como positivo, negativo o indeterminado (Tabla de criterios técnicos) con el uso del programa de interpretación QFTGIT desarrollado por la compañía (QFTGIT, Cellestis Ltd., Carnegie, Australia).

**Criterios técnicos utilizados para la interpretación de la prueba de QuantiFERON
TB Gold In Tube.**

Blanco 1 [IU/ml]	Antígenos TB menos blanco [IU/ml]	Mitógenos menos blanco [IU/ml]	Resultados del Quantiferon ® - TB Gold IT	Informe/ Interpretación
≤ 5,0	< 0.35	≥ 0.5	Negativo	Infección por M. Tuberculosis IMPROBABLE
	≥ 0.35 y < 25% del valor blanco	≥ 0.5		
	≥ 0.35 y ≥ 25% del valor blanco	Cualquiera	Positivo	Infección por M. Tuberculosis PROBABLE
	< 0.35	< 0.5	Indeterminado	Resultados relativos a la respuesta de Antígenos TB INDETERMINADOS
	≥ 0.35 y < 25% del valor blanco	< 0.5		
> 5,0	Cualquiera	Cualquiera		

1 Para que los resultados del QuantiFERON ® TB Gold en tubo de un sujeto se consideren válidos, la medición del tubo blanco (o de nulos) ha de ser ≤ 8,0 IU/ml y los mitógenos – nulo, de ≥ 0.5 IU/ml O los antígenos TB – blanco debe ser ≥ 0.35 IU/ml.

Ensayo de cuantificación de IP-10 por Luminex La concentración de IP-10 se cuantificó de la muestra de plasma de sangre estimulada con antígenos ESAT-6 y CFP10 que resultan del ensayo de Quantiferon TB Gold.

Se cuantificó la concentración de IP-10 por el método de Luminometría (Luminex) usando el sistema comercial de la marca Bio-Rad (Human CXCL10/IP-10 Luminex Assay, Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Este ensayo se realizó por duplicado con 100 ul de muestra de plasma, con perlas inmunomagnéticas recubiertas con anticuerpos anti-IP-10. Posteriormente se agregó un anticuerpo secundario marcado con biotina-estreptavidina y se agregó el sustrato. Se analizó la fluorescencia con un equipo Bioplex-200, Bio-Rad.

7.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las diferencias clínicas y demográficas se analizaron con la prueba de *t* de Student. Los valores de niveles de IP-10 e IFN- γ se mostraron en distribución con rango y medias. Para la comparación de medias entre los grupos (QuantiFERON TB Gold positivos vs negativos) se utilizó la prueba estadística no paramétrica U de Mann-Whitney. Se calculó el coeficiente de correlación (r^2) de Spearman entre IFN- γ e IP-10 y se considerarán significativos valores de $p < 0.05$. Para los cálculos estadísticos, se utilizó el programa GraphPad v. 5 (Prism, La Jolla, California).

8. IMPLICACIONES ÉTICAS

Se invitó de manera directa a los médicos residentes a participar en el estudio y se les solicitó su consentimiento por escrito antes de realizar estudios. El proyecto fue aprobado por el comité de ciencia y Bioética en investigación mediante el código E0215

9. RESULTADOS

Durante el periodo de enero 2016 a mayo 2017 se reclutaron 40 médicos residentes, 22 hombres (55%) y 18 mujeres (45%) con promedio de edad 28 años. Del total de residentes 8 pertenecen al primer año, 8 al segundo año, 14 de tercer año, 8 de cuarto año y 2 sujetos que laboran con médicos adscritos. Los hombres demostraron mayor sobrepeso en comparación con las mujeres y no se observó diferencias en los niveles de glucosa en ambos sexos. (Tabla No.1).

Los principales lugares de origen de los residentes fueron: Ciudad México, Chiapas, Guatemala, Edo. México y Michoacán. (Figura No.1)

De los sujetos estudiados el 100% tiene convivencia con pacientes con diagnóstico de TB. El 55-60% habían estado presentes en algún procedimiento como inducción de esputo o broncoscopia, atendiendo un promedio de 5 a 6 pacientes con TB al mes en un área de trabajo con un número aproximado de 41 personas.

Tabla No.1 Datos Demográficos (N=40)

	Hombre (%)	Mujer (%)	p
Sexo	22 (55)	18 (45)	
Edad (años)	28 (+/-2)	28(+/-2)	0.9862
Escolaridad (años)	19 (+/- 7)	15(+/-7)	0.1432
Peso (Kg)	80.24 (+/-10 kg)	62,3 (+/-13 kg)	0.00003
Talla (mts)	1.74	1.62	1.2338
IMC (kg/m2)	26.5	23.6	0.0098
Glucosa (mg/dl)	85.75	92.7	0.3852
Año de ingreso			
2017	4 (18)	4 (22)	
2016	3 (14)	5 (28)	
2015	10 (46)	4 (22)	
2014	4 (18)	4 (22)	
2013	1 (5)	0	
2008	0	1 (6)	

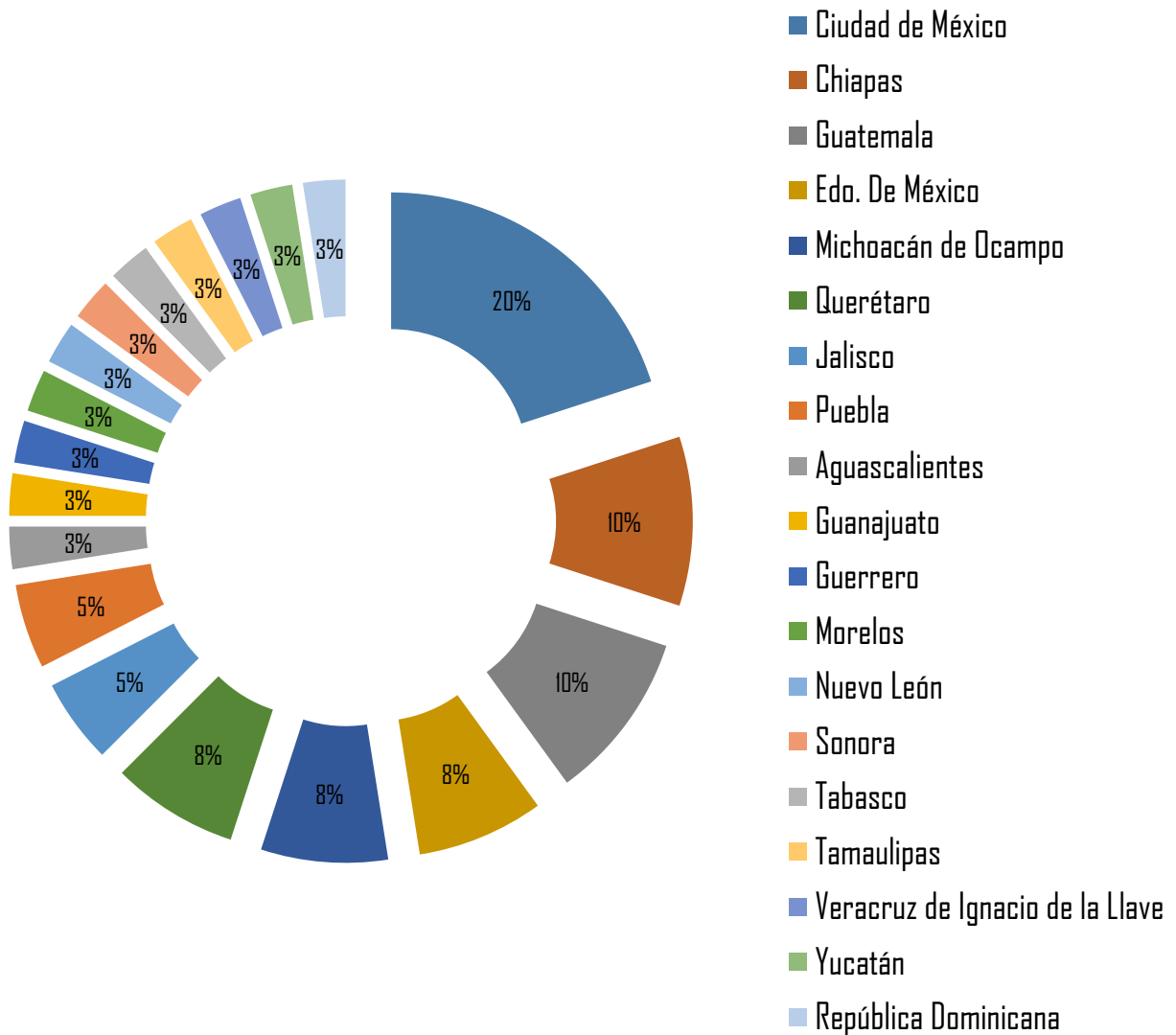
IMC: índice de masa corporal.

Todos los residentes afirmaron tener conocimiento de las medidas preventivas para el contacto con pacientes infectados por *M. tuberculosis*, sin embargo solo 82% de ellos utilizan cubre bocas de alta eficiencia y únicamente 65% mencionan estar capacitados en el uso de dichos cubre bocas (Tabla No.2)

En cuanto a los factores de riesgo 11 de 40 (27.5%) médicos tiene un compañero de trabajo con diagnóstico de TB; 1 sujeto describió cursar con Diabetes mellitus.

Teniendo en cuenta que el tabaquismo es un factor de predisponente para el desarrollo de enfermedades pulmonares el 20% (8/40) de los residentes han fumado > 100 cigarrillos en su vida, 15% fuman actualmente y cerca de 50% tienen convivencia con fumadores. Al interrogar sobre el consumo leche y/o sus derivados crudos únicamente el 18% refirió haberlos consumido.

Figura No.1 Lugar de Origen.



El antecedente de vacuna de BCG estuvo presente en el 87.5% (35/40) de los sujetos siendo corroborado por la presencia de la cicatriz en el brazo. 60% había recibido administración de PPD en los últimos 6 meses y 8 narraron haber tenido la prueba positiva (Tabla No.3)

Tabla No.2 Antecedentes Personales.

	Hombre (%)	Mujer (%)	Total (%)
Rotación > de 6 meses en otro hospital	20 (91)	15 (83)	35 (87.5)
Rotación > de 6 meses en centro de salud	14 (64)	10 (56)	24 (60)
Convivencia con pacientes con TBP	22 (100)	18 (100)	40 (100)
Exposición a MTB	22 (100)	18 (100)	40 (100)
# de pacientes con Dx TBP atendidos al mes	5.6 (+/-5)	6 (+/-4)	
Estancia en laboratorio	6 (27)	4 (22)	10(25)
Presente en inducción de esputo	12 (55)	10 (56)	22(55)
Presente en procedimiento de broncoscopia	13 (59)	11 (61)	24 (60)
Presente en autopsias	3 (14)	0	3 (7.5)
Promedio personas en lugar de trabajo		41	
Conocimiento medidas para contacto de pacientes con TBP	22 (100)	18 (100)	40 (100)
Usa cubrebocas de alta eficiencia	19 (86)	14 (78)	33 (82.5)
Capacitado para uso de cubrebocas de alta eficiencia	14 (64)	12 (67)	26 (65)
Ha vivido con pacientes con TBP	1 (5)	0	1 (2.5)
Ha dormido en mismo cuarto con paciente con TBP	1 (5)	0	1 (2.5)
Ha dormido en misma cama con persona con TBP	1 (5)	0	1 (2.5)
Compañero de trabajo con Dx de TBP	7 (32)	4 (22)	11 (27.5)
Dx de Diabetes Mellitus	1 (5)	0	1 (2.5)
Dx de VIH/SIDA	0	0	0
Se ha realizado estudios de VIH	15 (68)	13 (72)	28 (70)
Consumido Queso o leche de rancho o crudos	8 (36)	10 (56)	18 (45)
Fumado > de 100 cigarros en su vida	7 (32)	1 (6)	8 (20)
Actualmente fuma	4 (18)	2 (11)	6 (15)
Convivencia con fumador	10 (45)	10 (56)	20 (50)
Toma > 14 bebidas alcohólicas en una semana	3 (14)	0	3 (7.5)
Exposición > de un año a humo, polvo o sustancias químicas	4 (18)	1 (6)	5 (12.5)
Exposición a humo de leña	0	0	0

TBP: Tuberculosis Pulmonar, MBT: mycobacterium tuberculosis, VIH: virus de inmunodeficiencia humana

Tabla No. 3 Antecedente de Vacuna BCG.

	Hombre (%)		Mujer (%)		Total (%)
BCG previo	19 (85)		16 (89)		35 (87.5)
TST previo	13 (59)		11 (61)		24 (60)
Tiempo de realizado	>6 meses	<6 meses	>6 meses	<6 meses	
	5 (38)	8 (62)	1 (9)	10 (91)	
Resultado de la prueba (+)	3 (23)		5 (45)		8 (34)

BCG: Bacilo de Calmette Guerin, TST: tuberculin skin test.

Únicamente 7 sujetos describieron cursar o haber cursado con tos, pérdida de peso, hiporexia y fatiga como principales síntomas (Tabla No.4).

Tabla No. 4 Síntomas.

	Hombre (%)	Mujer (%)	Total (%)
Tos reciente > de 2 semanas	5 (23)	17 (3)	22 (55)
Fiebre	0	0	0
Tos persistente > mas de 2 semanas	1 (5)	2 (11)	3 (7.5)
Pérdida de peso	0	2 (11)	2 (5)
Hemoptoicos	0	0	0
Sudoración nocturna	0	0	0
Hiporexia	0	1 (6)	1 (2.5)
Fatiga	0	1 (6)	1 (2.5)

La prevalencia de Tuberculosis latente fue del 32.5% (13/40) utilizando el ensayo QuantiFERON® TB Gold y de 30% (12/40) utilizando PPD (de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana para la prevención y control de la tuberculosis (NOM-006-SSA2-2013) sin haber diferencias significativas entre hombres y mujeres (Tabla No.5).

El nivel promedio de IFN-γ alcanzó 254.550 pg/ml y el tamaño promedio de PPD fue 14.75 mm para los pacientes positivos en ambas pruebas.

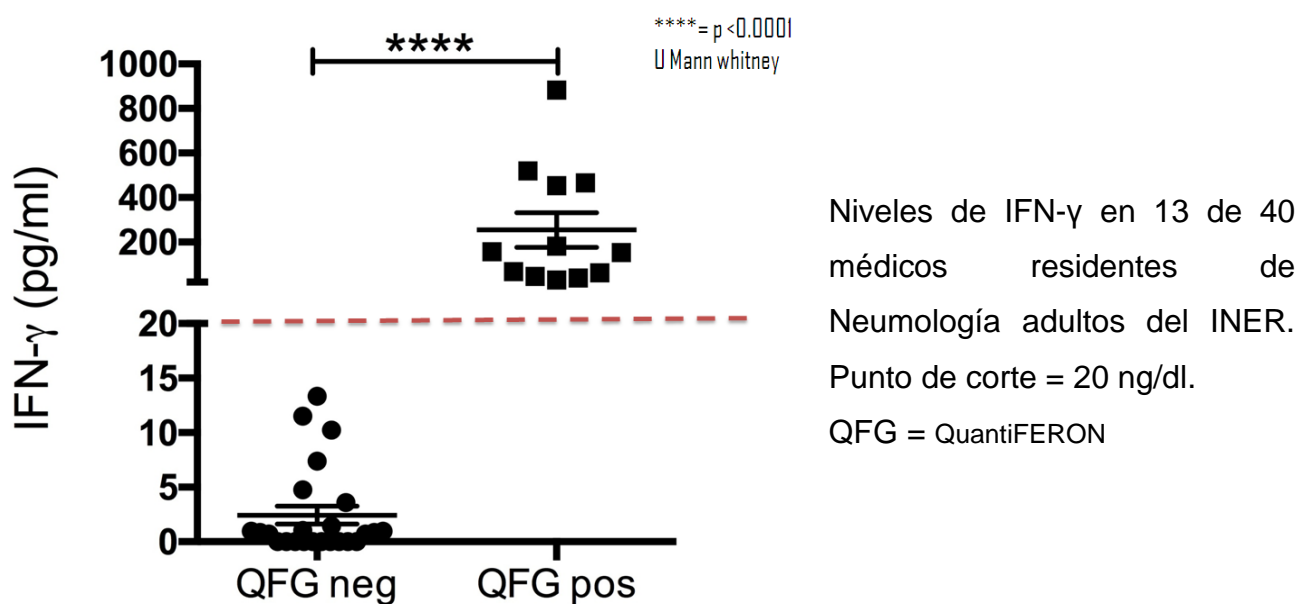
Los resultados de quimiocina IP-10 aun están pendientes.

Tabla No. 5 Resultados de QTF/TST.

Prueba (+)	Hombre (%)	Mujer (%)	Total
QTF	7 (32)	6 (33)	13 (32.5)
IFN-g (pg/ml)	173,509	335,662	254.550
TST	3 (14)	9 (50)	12 (30)
Tamaño promedio induración (mm)	13	16.5	14.75
IP-10	En proceso.		

QTF: Quantiferon, BCG: Bacilo de Calmette Guerin, TST: tuberculin skin test, IFN-g: interferon gama.

Figura No2, Niveles IFN-g/QFN



10. DISCUSIÓN

La tuberculosis sigue siendo, aún hoy, un enorme problema de salud pública. Anualmente en el mundo enferman más de nueve millones de personas de esta enfermedad y mueren alrededor de dos millones de ellas.

Actualmente, se estima que un tercio de la humanidad está infectada con el bacilo tuberculoso y que en los países con buen control de la enfermedad, la mayoría de los casos provienen de la reactivación de una tuberculosis latente. La TB se manifiesta en dos formas principales: enfermedad activa e infección latente (TBL). En esta última no hay sintomatología clínica ni es transmisible, debido a que la respuesta inmune es capaz de contener el crecimiento del patógeno pero no de eliminarlo, de manera que la bacteria persiste en el organismo manteniendo una baja o nula actividad replicativa.

En México para 2008 se reportaron 14,422 casos nuevos de TB, los modernos métodos para detección TB latente en diversas poblaciones incluyen el ensayo de liberación de interferón-gamma (QuantiFERON TB Gold), sin embargo estos estudios han sido predominantemente en países con baja incidencia de TB (<1 caso por 1000 habitantes), contándose con muy pocos datos para Latinoamérica y México.

En la actualidad en México no se tiene información disponible sobre estudios de prevalencia de TB latente diagnosticada utilizando QuantiFERON TB Gold en poblaciones de alto riesgo ocupacional como los trabajadores de la salud.

En el presente estudio se analiza la prevalencia de TB latente en 40 médicos residentes de Neumología del Instituto de Enfermedades respiratorias utilizando como método diagnóstico el QuantiFERON TB Gold y la prueba de tuberculina.

De los 40 sujetos 55% representan a los hombres y 44% a las mujeres, la mediana de edad para ambos sexos fue de 28 años mostrando los hombres sobrepeso como única diferencia antropométrica. El 54% de los residentes provienen del centro y sur de México (CdMX, Edo México, Querétaro, Michoacán y

Chiapas) contando así mismo con 5 extranjeros de zonas de alta prevalencia para TB (Guatemala y republica dominicana).

Es importante recalcar que la mayoría de los residentes presentan factores de riesgo para infección por *M. tuberculosis*, como por ejemplo: contacto directo y atención a pacientes con TB (promedio de 5 pacientes /mes) en lugares de trabajo con alta densidad de personas, realizar estudios médicos invasivos que propagan en el ambiente la micobacteria (inducción de esputo/broncoscopia), trabajar con compañeros con diagnostico de TBP y tabaquismo activo o pasivo.

Aunque el 100% refieren tener conocimiento de medidas de prevención para contacto con paciente infectados por TB (uso de cubrebocas de alta eficiencia) únicamente 65% de ellos ha recibido una capacitación formal en el uso de este dispositivo. Cerca del 87% tiene la cicatriz de BCG y 8 médicos el antecedente de un PPD positivo.

La prevalencia por TB latente fue del 31% en general, siendo similar en ambos métodos diagnósticos (32.5% para QuantiFERON TB Gold y 30% para prueba de tuberculina). El nivel promedio de IFN- γ encontrado es de 254.550 pg/ml y el tamaño promedio de PPD fue 14.75 mm para los pacientes positivos en ambas pruebas. A pesar de que la muestra de sujetos analizados es pequeña los resultados obtenidos en el estudio traen a la luz información importante, ya que al conocer la prevalencia de TBL en grupos de riesgo como son los médicos residentes esto permitirá tomar medidas dirigidas al diagnostico temprano de TBL en los trabajadores de salud en pro y beneficio para estos, así mismo de promover políticas en salud para la prevención y tratamiento oportuno de TBL.

12. CONCLUSIONES:

- La prevalencia de infección latente por *m. Tuberculosis* en población de alto riesgo ocupacional (médicos residentes de neumología) del INER es de 31%.
- La tasa de prevalencia de TB latente es similar utilizando como método diagnóstico QuantiFERON TB gold o TST en médicos residentes de neumología del INER.

13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Global tuberculosis control 2011. France, World Health Organization, 2011 (WHO/HTM/TB/2011.16).
- 2 Boletín del Sistema de vigilancia epidemiológica. Tuberculosis en México, 1ª parte. 2008, 13, 1-3.
- 3 Boletín del Sistema de vigilancia epidemiológica. Tuberculosis en México, 2ª parte. 2008, 14, 1-4.
- 4 American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161(4 Part 1):1376–9.
- 5 Pai M, Zwerling A, Menzies D, Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. *Ann Intern Med* 2008; 149:177-1784.
- 6 S.H. Kaufmann. How can immunology contribute to the control of tuberculosis?. *Nat Rev Immunol.* 2001;1:20-30.
- 7 Mazurek GH1, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K; IGRA Expert Committee; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection - United States, 2010. *MMWR Recomm Rep.* 2010 Jun 25;59(RR-5):1-25.
- 8 Liu M, Guo S, Hibbert JM, Jain V, Singh N, Wilson NO, Stiles JK. CXCL10/IP-10 in infectious diseases pathogenesis and potential therapeutic implications. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2011 Jun;22(3):121-30.
- 9 Wang Y, Yang Y, Li H, Liang Y, Liu J, Yu T, Wu X. Evaluation of a Whole Blood Chemiluminescent Immunoassay of Interferon-gamma Inducible Protein 10 (IP-10) for Diagnosis of Tuberculosis Patients. *Clin Lab.* 2016;62(1-2):165-72.

- 10 Borgström E1, Andersen P, Atterfelt F, Julander I, Källenius G, Maeurer M, Rosenkrands I, Widfeldt M, Bruchfeld J, Gaines H. Immune responses to ESAT-6 and CFP-10 by FASCIA and multiplex technology for diagnosis of M. tuberculosis infection; IP-10 is a promising marker. *PLoS One*. 2012;7(11):e43438.
- 11 Whittaker E, Gordon A, Kampmann B. Is IP-10 a better biomarker for active and latent tuberculosis in children than IFN γ ? *PLoS One*. 2008;3(12):e3901.
- 12 Lighter J1, Rigaud M, Huie M, Peng CH, Pollack H. Chemokine IP-10: an adjunct marker for latent tuberculosis infection in children. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2009 Jun;13(6):731-6.
- 13 Alsleben N1, Ruhwald M, Rüssmann H, Marx FM, Wahn U, Magdorf K. Interferon-gamma inducible protein 10 as a biomarker for active tuberculosis and latent tuberculosis infection in children: a case-control study. *Scand J Infect Dis*. 2012 Apr;44(4):256-62.
- 14 Morten Ruhwald, Martine G Aabye & Pernille Ravn (2012) IP-10 release assays in the diagnosis of tuberculosis infection: current status and future directions, *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 12:2, 175-187, DOI: 10.1586/erm.11.97
- 15 Jeong YH, Hur Y-G, Lee H, Kim S, Cho J-E, Chang J, Shin SJ, Lee H, Kang YA, Cho S-N, Ha S-J. 2015. Discrimination between active and latent tuberculosis based on ratio of antigen-specific to mitogen-induced IP-10 production. *J Clin Microbiol* 53:504 –510. doi:10.1128/JCM.02758-14.
- 16 Swaminathan S, Rekha B. Pediatric tuberculosis: global overview and challenges. *Clin Infect Dis* 2010; 50 Suppl 3:S184-194.
- 17 Pan H, Yan BS, Rojas M, Shebzukhov YV, Zhou H, Kobzik L, et al. *lpr1* gene mediates innate immunity to tuberculosis. *Nature* 2005; 434:767–772.
- 18 J.J. Yim, P. Selvaraj. Genetic susceptibility in tuberculosis. *Respirology*. 2010; 15:241-56.

19 Skamene E, Schurr E, Gros P. Infection Genomics: Nramp1 as major determinant of natural resistance to intracellular infections. Annu Rev Med 1998; 49:275–287.

14. ANEXOS

1. HOJA DE REGISTRO DE DATOS DE TRABAJADORES DE LA SALUD

1. FECHA DE LLENADO: |__|_|_|_|_|
dd mm aa

2. NOMBRE(S):

A. PATERNO:.....

A. MATERNO:.....

3. SEXO: 0 MUJER 1 HOMBRE

4. SI ES MUJER:
¿ESTÁ EMBARAZADA? 0 NO 1 SI

5. EDAD (AÑOS CUMPLIDOS): |__|_|_| años

6. FECHA DE NACIMIENTO: |__|_|_|_|_|
dd mm aa

7. LUGAR DE ORIGEN: _____

8. LUGAR DE RESIDENCIA ACTUAL: _____

9. TIEMPO DE RESIDENCIA EN SU VIVIENDA ACTUAL: |__|_| Años |__|_| Meses

10. AÑOS DE ESCOLARIDAD FORMAL: |__|_|_|_|

11. PREVIO A SU INGRESO A ESTE HOSPITAL, HA TRABAJADO, ROTADO O ASISTIDO POR MAS DE 6 MESES A:

Otros hospitales: 0 NO 1 SI Cuantos? _____

Centro de salud: 0 NO 1 SI Cuantos? _____

Reclusorios: 0 NO 1 SI Cuantos? _____

Internado: 0 NO 1 SI Cuantos? _____

TRABAJO

12. AREA DE TRABAJO ACTUAL: |__|_|

1. Administrativo
2. Médico (Servicios clínicos)
3. Enfermería (Servicios clínicos)
4. Laboratorio clinico y/o investigacion

13. ACTIVIDAD QUE REALIZA EN EL HOSPITAL?

14. AÑO DE INGRESO AL HOSPITAL:

15. EN SU TRABAJO, ¿CONVIVE CON PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR?
0 NO 1 SI

16. EN SU TRABAJO, ¿ESTÁ USTED EXPUESTO A LA MICOBACTERIA QUE CAUSA TUBERCULOSIS?
0 NO 1 SI

17. CUANTOS PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR EN PROMEDIO A ATENDIDO POR MES? _____

18. TRABAJA O A TENIDO ALGUNA ESTANCIA EN UN LABORATORIO DONDE SE TRABAJA CON *M. tuberculosis*? 0 NO 1 SI

19. DESDE HACE CUANTO TIEMPO HA ESTADO TRABAJANDO EN LABORATORIO CON *M. tuberculosis*? |__|_|_| Años |__|_|_| Meses

20. HA REALIZADO O ESTADO PRESENTE DURANTE LOS SIGUIENTES PROCEDIMIENTOS:

a. Induccion de esputo? 0 NO 1 SI

b. Broncoscopías? 0 NO 1 SI

c. Autopsias? 0 NO 1 SI

21. ¿CUÁNTAS PERSONAS EN PROMEDIO TRABAJAN CON USTED EN EL LUGAR DONDE USTED TRABAJA? |_|_|_|

22. CONOCE USTED LAS MEDIDAS DE PRECAUCION PARA CONTACTO CON PACIENTES CON TBP?
0 NO 1 SI

23. USA USTED CUBREBOCAS DE ALTA EFICIENCIA (N-95) PARA LA ATENCION DE ESTOS PACIENTES?
0 NO 1 SI

24. ALGUNA HA RECIBIDO CAPACITACION PARA EL USO DE CUBREBOCAS DE ALTA EFICIENCIA (N-95)?
0 NO 1 SI

ANTECEDENTES PERSONALES

25. ¿ALGUNA VEZ LE HAN DICHO QUE TIENE USTED TUBERCULOSIS LATENTE?
0 NO 1 SI

26. ¿ALGUNA VEZ HA RECIBIDO TRATAMIENTO PARA TUBERCULOSIS LATENTE?
0 NO 1 SI

27. ¿ALGUNA VEZ LE HAN DICHO QUE TIENE USTED TUBERCULOSIS PULMONAR?
0 NO 1 SI

28. ¿ALGUNA VEZ HA RECIBIDO TRATAMIENTO PARA TUBERCULOSIS PULMONAR?
0 NO 1 SI

29. ¿HA VIVIDO USTED EN LA MISMA CASA QUE UNA PERSONA CON TUBERCULOSIS PULMONAR?
0 NO 1 SI

30. ¿HA DORMIDO USTED EN EL MISMO CUARTO QUE UNA PERSONA CON TUBERCULOSIS PULMONAR?
0 NO 1 SI

31. ¿HA DORMIDO USTED EN LA MISMA CAMA QUE UNA PERSONA CON TUBERCULOSIS PULMONAR?
0 NO 1 SI

32. ¿ALGUNO DE SUS COMPAÑEROS DE TRABAJO HA DESARROLLADO TUBERCULOSIS PULMONAR Y/O EXTRAPULMONAR?
0 NO 1 SI

33. ¿ALGUNA VEZ UN MÉDICO LE HA DICHO QUE USTED TIENE DIABETES?
0 NO 1 SI

34. ¿ALGUNA VEZ UN MÉDICO LE HA DICHO QUE TIENE USTED INFECCION POR VIH/SIDA?
0 NO 1 SI

35. ALGUNA VEZ SE HA REALIZADO ESTUDIOS PARA DETECCION DE INFECCION POR VIH?
0 NO 1 SI

36. CONOCE EL RESULTADO DEL ESTUDIO?
0 NEGATIVO 1 POSITIVO

37. ¿ALGUNA VEZ UN MÉDICO LE HA DICHO QUE TIENE USTED ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA?
0 NO 1 SI

38. ¿ALGUNA VEZ LE HAN HECHO UNA ESPIROMETRIA?
0 NO 1 SI

39. ¿ALGUNA VEZ HA CONSUMIDO USTED ALGUN QUESO O LECHE NO PASTEURIZADAS (DE RANCHO O CRUDOS)?
0 NO 1 SI

40. ¿TIENE USTED LA VACUNA CONTRA LA TUBERCULOSIS (BCG)?
0 NO 1 SI

41. ¿CUANTAS CICATRICES DE LA VACUNA TIENE USTED? |_|_|_|

42. ¿ALGUNA VEZ LE HAN HECHO LA PRUEBA DE LA TUBERCULINA O PPD?
0 NO 1 SI

43. HACE CUANTO TIEMPO SE REALIZO EL ESTUDIO?
0 <6meses 1 >6meses

44. ¿SE ACUERDA USTED SI EL RESULTADO DE LA PRUEBA FUE POSITIVO O NEGATIVO?
0 NEGATIVO 1 POSITIVO
(SI NO RECUERDA, DEJAR EN BLANCO)

