

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

11250

1
2y

FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE POSTGRADO



UTILIDAD DE LA REACCION DE POLIMERASA EN
CADENA COMO DIAGNOSTICO OPORTUNO DE
TUBERCULOSIS PULMONAR.

T E S I S
QUE PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD EN
NEUMOLOGIA PEDIATRICA
P R E S E N T A E L
MEDICO CON ESPECIALIDAD EN
PEDIATRIA MEDICA
GABRIEL AGUILAR PIÑON

ASESOR: DR. ROBERTO VELAZQUEZ SERRATOS.
DEPARTAMENTO DE NEUMOLOGIA PEDIATRICA
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
S.S.A. MEXICO, D. F.

MEXICO, D. F.

Vc Be
[Signature]

1998.

268470



INER

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES
RESPIRATORIAS
SUBDIRECCION GENERAL DE ENFERMERIA

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

SEÑOR:
*Mi agradecimiento por tener a
este siervo tuyo en tus manos
fortalecido en la fe junto a ti y
teniendo junto contigo una prueba mas de
fidelidad de tu amor para con
Tus hijos*

Gracias !

Es pues la fe la certeza de lo que se espera,
La convicción de lo que no se ve
Hebreos 11:1

Agredecimientos

A el Dr Alfredo Toledo por su comprensión,
enseñanza, dedicación y amistad.

A el Dr Roberto Velazquez Serratos por su
dedicación, enseñanza y asesoría.

A mis Compañeros de Residencia :
Nelly, Amelia, Ariel, Eric, Mary, Lulu.
Gracias por su amistad y compañerismo.

A todos los que laboran en el pabellón
de Neumología Pediátrica.

A todos los que laboran en el servicio
de enseñanza por su atención
para con nosotros.

A todos los pacientes de el pabellon.

*Dedico especial mente esta tesis
A mis padres,hermanos,
A la"celula"
A mis suegros
a mi esposa
por su apoyo , paciencia,
consejos y oraciones,
con sincera gratitud y
amor.*

*Dedico especial mente esta tesis
A mis padres,hermanos,
A la"celula"
A mis suegros
a mi esposa
por su apoyo , paciencia,
consejos y oraciones,
con sincera gratitud y
amor.*

INDICE GENERAL

| | |
|--|----|
| INDICE DE FIGURAS | ii |
| ANEXOS | 37 |
| | |
| 1. INTRODUCCION. | |
| 1.1. CULTIVOS..... | 1 |
| 1.2. METODO DE ZIEHL-NELSON..... | 2 |
| 1.3. PRUEBA DE MANTOUX..... | 3 |
| 1.4. RADIOLOGÍA..... | 4 |
| 1.5. DIAGNÓSTICO CLÍNICO..... | 4 |
| 1.6. ESTUDIO POR INMUNOENSAYO..... | 5 |
| 1.7. PRUEBA DE PCR..... | 5 |
| | |
| 2. JUSTIFICACIÓN | 7 |
| 3. OBJETIVO | 8 |
| | |
| 4. MATERIAL Y METODO. | |
| 4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO..... | 9 |
| 4.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN..... | 9 |
| 4.3. METODOLOGÍA..... | 10 |
| | |
| 5. RESULTADOS | 12 |
| | |
| 6. DISCUSIÓN | 28 |
| | |
| 7. CONCLUSIONES | 33 |
| | |
| 8. REFERENCIAS | 34 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Distribución de sexo por edad..... | 13 |
| Figura 2. Aplicación de BCG..... | 14 |
| Figura 3. Escala de valoración de Toledo..... | 15 |
| Figura 4. Escala de valoración de Kaplan..... | 16 |
| Figura 5. ELISA para tuberculosis | 18 |
| Figura 6. ELISA para VIH..... | 19 |
| Figura 7. Cultivos para tuberculosis | 20 |
| Figura 8. Biopsia pulmonar | 21 |
| Figura 9. PCR en lavado gástrico | 23 |
| Figura 10. PCR en lavado bronquial..... | 24 |
| Figura 11. PCR en orina | 25 |
| Figura 12. PCR en LCR..... | 26 |
| Figura 13 PCR en Líquido pleural..... | 27 |

1.INTRODUCCION

La tuberculosis es una de las enfermedades infecciosas más importantes en el mundo. Cada año aparecen aproximadamente 8 millones de casos nuevos reportados. Anualmente mueren 3 millones aproximadamente; este incremento de defunciones se ha observado en pacientes con tuberculosis asociado a SIDA⁽¹⁾. Todo este incremento progresivo en número de casos nuevos de tuberculosis se ha observado desde el año 1985 asociado ya en los 90's a factores predisponentes como el SIDA. Todo lo anterior a estimulado a desarrollar y estudiar en varias áreas, particularmente nuevos métodos para un diagnóstico rápido de tuberculosis como son nuevos sistemas de cultivo así como pruebas de susceptibilidad de antibióticos. El avance de biología molecular a creado nuevas oportunidades para desarrollar diferentes métodos de diagnóstico con sofisticadas técnicas, sin olvidar la importancia de técnicas antiguas así como el diagnóstico clínico del paciente⁽¹⁾.

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO EN LA TUBERCULOSIS.

1.1 CULTIVOS

El medio de cultivo para *Mycobacterium tuberculosis*, incluye el medio de Lowenstein-Jensen, el cual requiere de 3 a 8 semanas para el crecimiento, y BACTEC® (Becton-Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Sparks, MD), el cual puede detectar *M. tuberculosis* dentro de un periodo de 1 a 3 semanas, y puede ser

utilizado en cultivos sanguíneos, en secreción respiratoria y en orina^(1, 2). Este método ha reportado una sensibilidad y especificidad de el 100%⁽¹⁾.

El crecimiento de *M. tuberculosis* se da en una temperatura de 35 a 37°C con un pH de 6⁽¹⁾. Una desventaja de este método de estudio son sus falsos positivos y falsos negativos por contaminación de medios utilizados en el momento de su realización⁽³⁾.

1.2 METODO DE ZIEHL-NELSON.

Uno de los métodos mas populares es el método de Ziehl-Nelson este es examinado por microscopía. Teniendo reportes de falsos positivos por otro tipo de Mycobacterias ácido alcohol resistentes⁽¹⁾.

A continuación se menciona la recolección de las diferentes especies así como su cantidad para la realización de este estudio.

Espudo : Se requieren por lo menos de 5 a 10 mL de recolección diaria; teniendo poca probabilidad de aislamiento con alícuotas menores de 2mL.

Secreción Laringea: Teniendo por lo menos 2mL de la muestra.

Lavado Gástrico: En el adulto y niño se requieren de 20 a 40mL en agua estéril y a temperatura ambiente. Estas muestras pueden ser neutralizadas con fosfato de sodio. Las pruebas de Ziehl-Nielson son de utilidad en aquellos pacientes bacilíferos, por lo tanto, en el paciente pediátrico no han mostrado ser útiles, ya que no es bacilífero en la gran mayoría de los casos^(4,5).

1.3 PRUEBA DE MANTOUX.

Es la prueba donde se aplican 5 unidades de un derivado protéico purificado (PPD) en inyección intracutánea con una dosis de 0.1 mL. Esta técnica requiere de una exposición al *M tuberculosis* o a la enfermedad de la tuberculosis activa para su positividad. El diámetro de induración de la piel es mayor a 10 mm, para ser positivo, y debe ser leído de 48 a 72 horas. Su interpretación así como su importancia de la misma, depende de la edad del niño y riesgo a exposiciones o a una cantidad de *M tuberculosis*.

Los falsos positivos se observan en:

- Aplicación incorrecta
- Interpretación incorrecta
- Reactividad con micobacterias no tuberculosas.

Los falsos negativos los observemos con:

- | | |
|--|----------------------------------|
| Aplicación de tuberculina incorrecta | Exposición a la luz ultravioleta |
| Interpretación incorrecta | Deficiencia de zinc |
| Enfermedad tuberculosa generalizada | Anemia perniciososa |
| Infección viral coexistente con Uremia | Inmunodeficiencia celular |

La prueba presenta una sensibilidad de 68% a 97%, así como una especificidad del 40% al 90%. La prueba negativa no excluye la posibilidad de estar infectado⁽²⁾.

1.4. RADIOLOGÍA.

En el diagnóstico radiológico se encuentran diferentes formas de presentación como son:

| | |
|-------------------|------------------------|
| Enfisema parcelar | Atelectasia |
| Fibrotórax | Fístula ganglionar |
| Fístula bronquial | Caverna ganglionar |
| Neumonía caseosa | Neumonía |
| Bronconeumonía | Pleuresía fímica |
| Lesión miliar | Crecimiento ganglionar |

Teniendo un patrón no específico para la tuberculosis⁽⁶⁾.

1.5. DIAGNÓSTICO CLÍNICO.

Una gran mayoría se reporta como asintomática, pero en general se describen signos y síntomas como son: Pérdida de peso o peso estacionario, tos crónica, fiebre de larga evolución, cuadros diarreicos, mal estado general, dificultad respiratoria, estridor, hemoptisis, hepatoesplenomegalia, crecimiento ganglionar^(7,8).

Es importante mencionar los antecedentes que presenta el paciente como son:

Contacto con bacilíferos o tuberculosos, así como el lugar donde habita y Estado de procedencia, antecedentes de VIH positivo, si se encuentran en Instituciones penales, Casa Hogar, migrante, indigente, desnutrido, enfermedad renal crónica, leucemia, enfermedad de Hodgkin y silicosis^(2,7,8).

1.6. ESTUDIO POR INMUNOENSAYO.

Otro estudio de utilidad es el de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent assay). Este estudio fue desarrollado para la detección de antígenos y anticuerpos de *M tuberculosis*, incluyendo el PPD. La prueba tipifica en sangre, lavado bronquial, líquido cefalorraquídeo; esto es para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar. La prueba de ELISA es modificada con pacientes inmunizados con vacuna de BCG, y particularmente, restan importancia en el estudio de los pacientes menores de 5 años^(2,4).

1.7. PRUEBA DE PCR.

La Prueba de Reacción de Polimerasa en Cadena (PCR), ha sido en los últimos años de gran utilidad en el diagnóstico de la tuberculosis. Sus primeras aplicaciones importantes se remontan desde 1990, con pacientes con VIH positivo, así como con los pacientes con tuberculosis drogoresistente ^(3,9,10). El PCR utiliza el DNA con secuencia IS6110. El estudio de PCR se puede llevar a cabo en diferentes secreciones y tejidos como son: Espudo, cepillado bronquial, lavado bronquial, líquido pleural, material de biopsia, médula ósea, abscesos, líquido cefalorraquídeo y orina.

La sensibilidad de la prueba en pacientes pediátricos en lavado gástrico, sin evidencia de cultivo positivo, pero sí de antecedentes de tuberculosis, datos radiológicos de tuberculosis, así como datos clínicos, no supera el 25%. La sensibilidad se supera cuando existen otros datos para el diagnóstico⁽²⁾.

Se han enumerado una gran cantidad de datos, acerca de la sensibilidad y especificidad del estudio, reportando una sensibilidad desde 40% hasta un 93% en diferentes estudios, así como una especificidad desde 80% hasta un 100%^(1,2,11,12,13,14). Este estudio no ha podido reemplazar a el medio de cultivo, pero si existe una gran utilidad por su rápido resultado en tan solo 18 horas⁽²⁾. Ha sido de gran utilidad en pacientes drogoresistentes y asintomáticos⁽¹⁰⁾.

Se ha podido utilizar esta prueba en otros tejidos con gran utilidad teniendo una sensibilidad del 58% y una especificidad del 96%⁽¹⁵⁾.

Se han reportado una cantidad variable de falsos positivos en varios estudios, teniendo un porcentaje del mismo de 0.2% a 12%^(1,3,16,17). Su porcentaje de falsos negativos reportados en la literatura es del 7%⁽¹⁾. Estos reportes de falsos positivos y negativos se deben a contaminación de los medios de cultivo en el laboratorio o por otras especies de micobacterias.

Actualmente, se están realizando estudios con especies diferentes de micobacterias, esto es de gran utilidad en pacientes inmunocomprometidos^(11,13,18).

2. JUSTIFICACIÓN

Actualmente, la literatura internacional ha demostrado la importancia y utilidad del método de Reacción de Polimerasa en Cadena (PCR) para el diagnóstico rápido y oportuno de tuberculosis pulmonar^(1,2).

En México, el método de PCR se ha implementado en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), a partir de Junio de 1994. Sin embargo, a la fecha, no existe un estudio descriptivo que muestre la utilidad del diagnóstico de tuberculosis pulmonar por el método de PCR en dicho Instituto.

El presente trabajo generará información útil en el manejo del paciente pediátrico que ingrese al INER con un cuadro sugestivo de tuberculosis pulmonar, y el cual puede ser tratado oportunamente, mejorando su calidad de vida, si existe una valoración y diagnóstico rápidos y específicos.

3. OBJETIVO

Describir la positividad de la Reacción de Polimerasa en Cadena en los pacientes pediátricos con tuberculosis pulmonar, que ingresaron al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias en el período de Junio de 1994 a Octubre de 1998, para valorar su utilidad en el diagnóstico oportuno de tuberculosis pulmonar.

4. MATERIAL Y METODOS.

4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO.

El estudio fue observacional, descriptivo y retrospectivo

Se revisaron todos los casos con diagnóstico de tuberculosis pulmonar en pacientes pediátricos menores de 16 años ingresados por el Servicio de Consulta Externa en el INER, durante el período de Junio de 1994 a Octubre de 1998.

4.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.

Los expedientes de los pacientes que ingresaron en el presente trabajo, cumplieron con los siguientes criterios de inclusión:

1. Pacientes pediátricos menores 16 años.
2. Sexo femenino o masculino.
3. Con diagnóstico probable de tuberculosis.
4. Tipificados por PCR.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes:

1. Pacientes de 16 años o más.
2. Con diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar, sin repercusión pulmonar.
3. Pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar pero sin tipificación de PCR.

4.3. METODOLOGÍA.

Los datos de identificación de cada paciente, así como la información del laboratorio, fueron capturados en una ficha clínica elaborada por el autor de la tesis (Anexo 1).

Se recolectaron los siguientes datos:

Datos de Identificación del Paciente.

Nombre completo del paciente, número de expediente, sexo, edad, fecha de ingreso y egreso del hospital. Se tomó el dato de la aplicación o no aplicación de la vacuna de BCG al nacimiento; así mismo, se señaló si esta aplicación fue dudosa.

Datos de Laboratorio.

Se consideró la información referida de los cultivos para tuberculosis en lavado bronquial y lavado gástrico, los cuales, se reportaron en un tiempo variable; ya sea durante su hospitalización, o algunas semanas posteriores a su ingreso y ya canalizadas por consulta externa.

Se capturaron los datos obtenidos por el método de ELISA para VIH, así como el método de ELISA en sangre para tuberculosis.

Aunado a lo anterior, se capturaron los datos referidos por la Reacción de Polimerasa en Cadena (PCR), obtenida a partir de diferentes secreciones:

Orina. Se determina con previo aseo del área genital, por la mañana, en un frasco estéril y limpio.

Líquido pleural. Se determina con previa asepsia de la zona en donde se realiza la punción pleural, recolectando la muestra en un frasco limpio y estéril.

Lavado gástrico. Se realiza con el paciente en ayunas y con sonda gástrica, recolectando la muestra en un frasco limpio y estéril.

Lavado bronquial. Se realiza bajo sedación y por medio de fibrobroncoscopia flexible, recolectando la muestra en un frasco limpio y estéril.

Líquido cefalorraquídeo. Se realiza con previa asepsia de la zona donde se realiza la punción, recolectando la muestra en un frasco limpio y estéril.

Criterios de Diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar.

En todos los pacientes se tomaron en cuenta los criterios para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar dados por Stegen, Jones, Kaplan⁽²⁶⁾. Así como en todos los pacientes se da la escala de criterios diagnósticos para tuberculosis pulmonar dada por Toledo^(25,26).

Los resultados del estudio se recolectaron de los expedientes clínicos completos de los pacientes del archivo de el INER.

5. RESULTADOS

La **figura 1** muestra las edades de los 38 pacientes que se captaron en el presente análisis. Se observó una edad mínima de 4 meses y una máxima de 15 años, con un promedio \pm desviación estándar de 7.1 ± 5 años. En la misma figura, se describe la distribución por sexo, observando un número importante de pacientes del sexo femenino, 24 de los 38, lo que representa un 63.16%. Por otra parte, del sexo masculino se observan 14 pacientes de 38, representando un 36.84%

La **figura 2** describe la aplicación de la vacuna de BCG al nacimiento de cada paciente, observándose positiva en 23 pacientes de los 38 (60.53%); fue dudosa su aplicación en 14 de los 38 pacientes (36.84%); de los pacientes confirmados que no se colocó, se observa 1 de los 38 pacientes (2.63%).

En la **figura 3** se describe el puntaje obtenido en la escala de diagnóstico de tuberculosis de Toledo^(4,25) en los 38 pacientes; observándose los siguientes puntajes: 2 o menos puntos = 3 pacientes de los 38 (7.89%); 3 a 4 puntos = 8 pacientes de los 38 (21.05%); con 5 a 6 puntos = 3 pacientes de los 38 (7.89%) y con 7 puntos o más = 24 pacientes de los 38 (63.16%).

Aunado a lo anterior, en la **figura 4** se muestra el puntaje otorgado a los 38 pacientes, de acuerdo a la escala diagnóstica de tuberculosis elaborada por Kaplan. Se observan los siguientes puntajes: 1 a 2 puntos = 2 de los 38 pacientes (5.26%);

FIG. 2 APLICACIÓN DE BCG

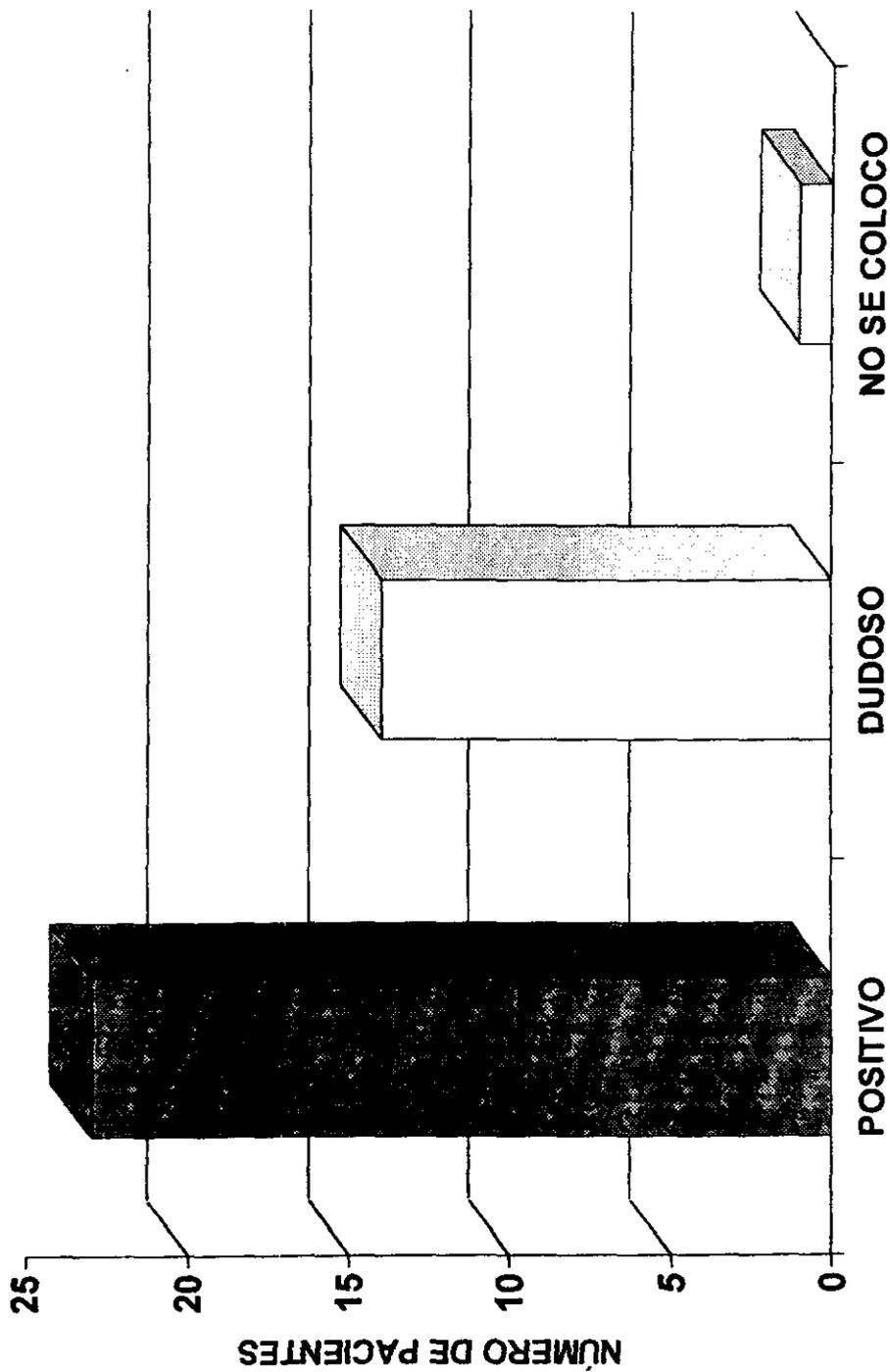


FIG. 3. ESCALA DE VALORACIÓN DE TOLEDO

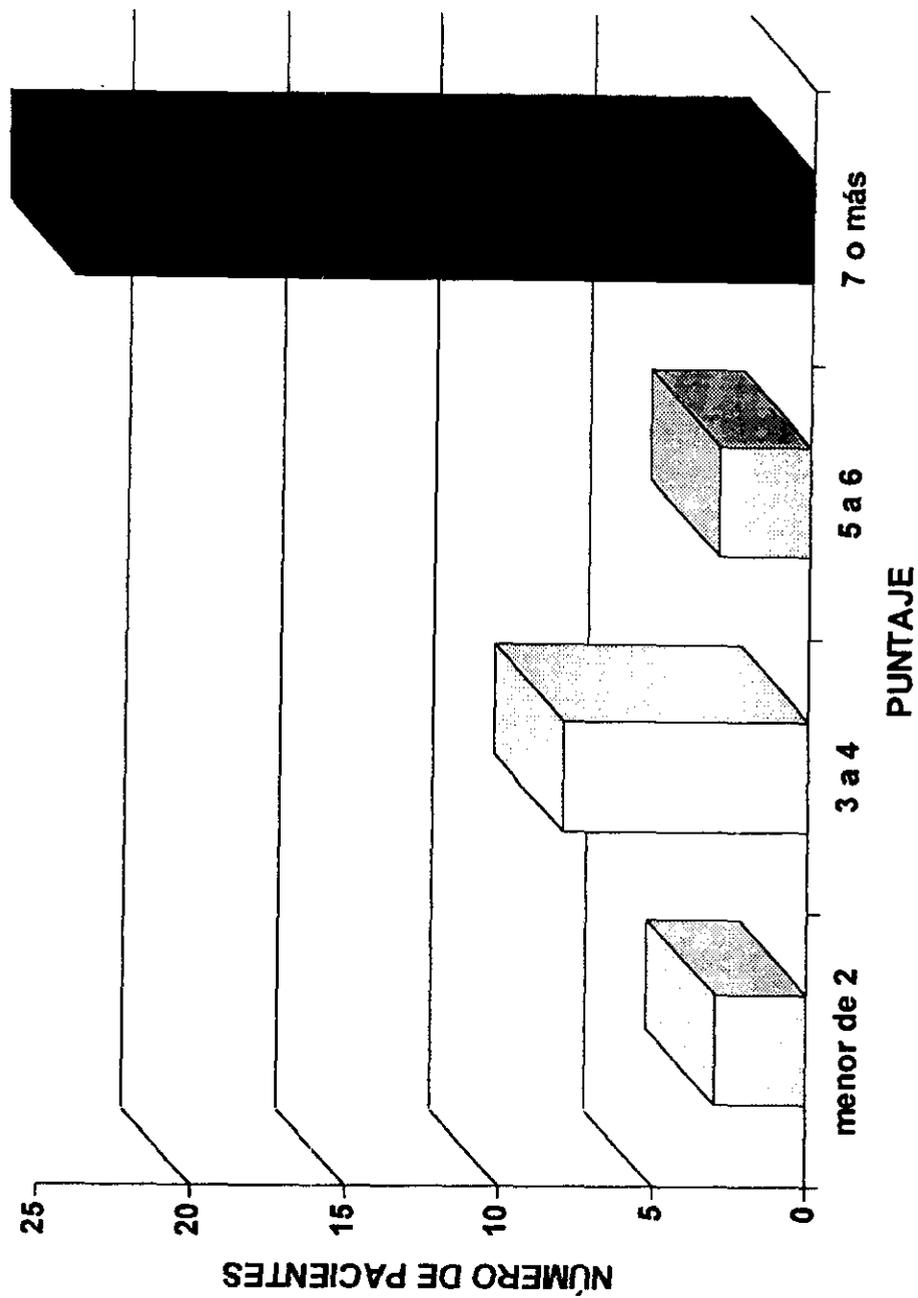
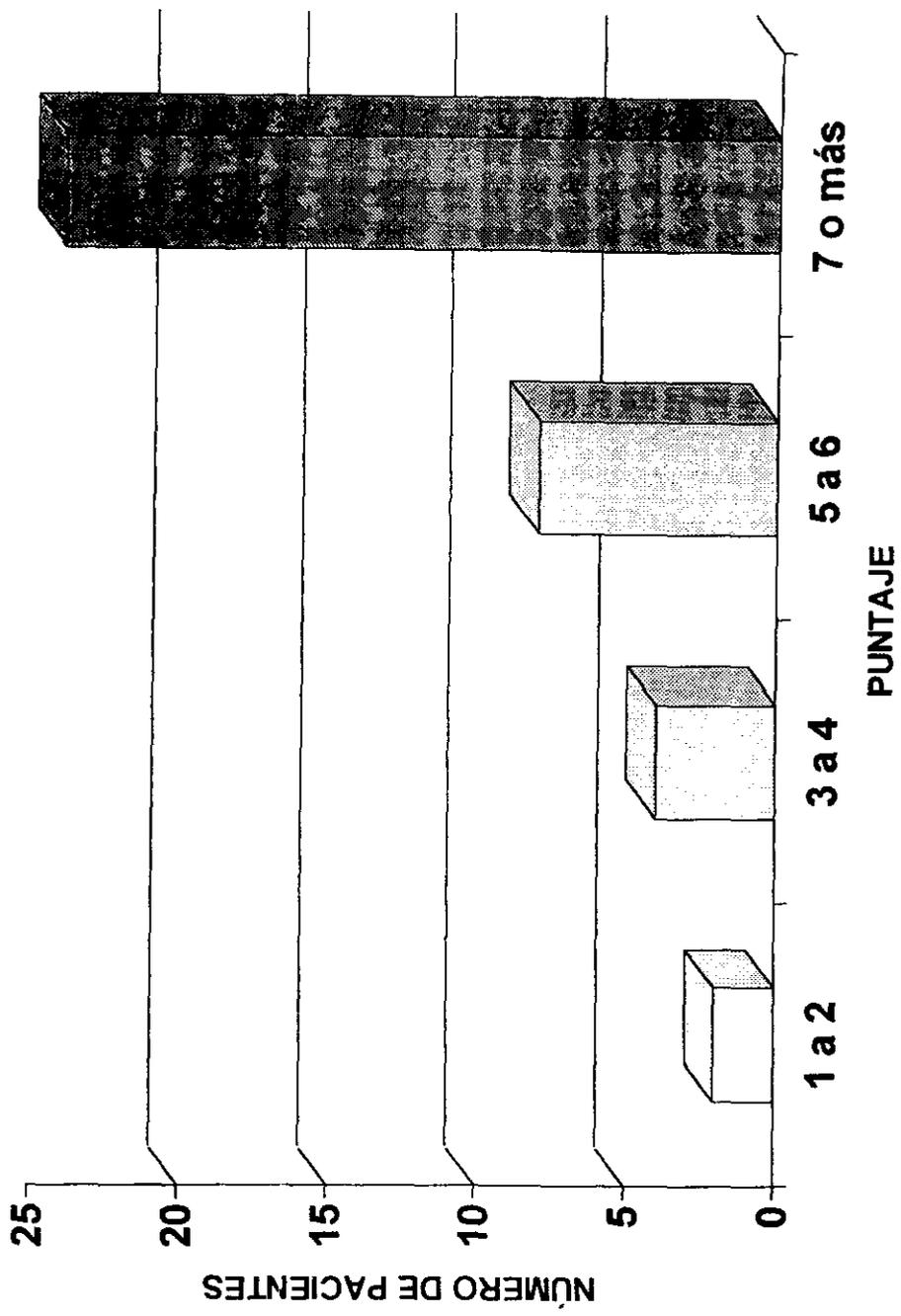


FIG. 4. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE KAPLAN



FALTAN PAGINAS

De la:

13

A la:

16

de 3 a 4 puntos = 4 pacientes (10.53%); de 5 a 6 puntos = 8 pacientes de los 38 (21.05%) y con 7 puntos o más = 24 pacientes de los 38 (63.16%).

En la **Figura 5** se describen los casos positivos, negativos y no realizados de la prueba de ELISA para el diagnóstico sanguíneo de tuberculosis, esta prueba sólo se realizó en 23 pacientes de los 38. Se observan 9 reportes positivos de los 23 pacientes analizados (23.68%), 14 estudios fueron negativos de los 23 (36.84%). La prueba no se realizó en 15 pacientes de los 38 (39.47%).

La **figura 6** describe el porcentaje de casos positivos de VIH por la prueba de ELISA realizada únicamente en 18 pacientes del total de 38. En la figura se observan 3 casos positivos (7.89%); 15 pacientes fueron negativos (39.47%). No se realizó la prueba en 20 pacientes del total de 38 (52.63%).

En la **Figura 7** se describen los resultados de los cultivos tomados en 25 pacientes de los 38, en muestras de expectoración, y en algunos casos en lavado bronquial, de los pacientes con tuberculosis pulmonar. Se observan 10 casos positivos para tuberculosis (26.32%); 15 casos son negativos (39.47%) y finalmente existen 13 pacientes en los cuales no se tomó o no se reportó el estudio (34.21%).

En la **Figura 8** se describe el porcentaje de aquellos pacientes en los cuales fue posible la obtención de biopsia pulmonar para reportar tuberculosis. El estudio se realizó sólo en 2 de los 38 pacientes, lo que representa un 5.26%, y no se realizó la toma de biopsia en 36 de 38 pacientes, representando un 94.73%.

FIG. 5 . ELISA PARA TUBERCULOSIS

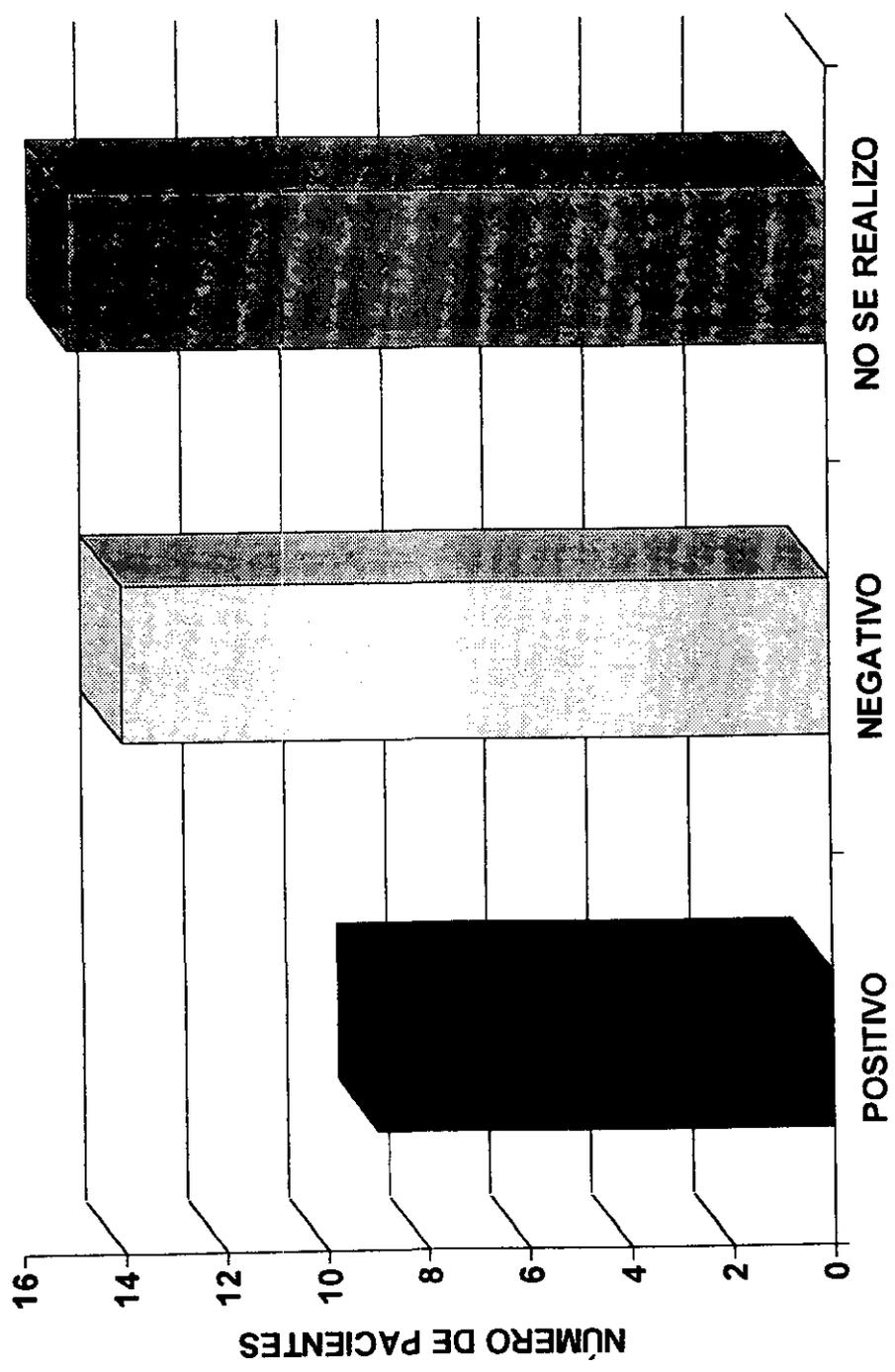


FIG. 6. ELISA PARA VIH

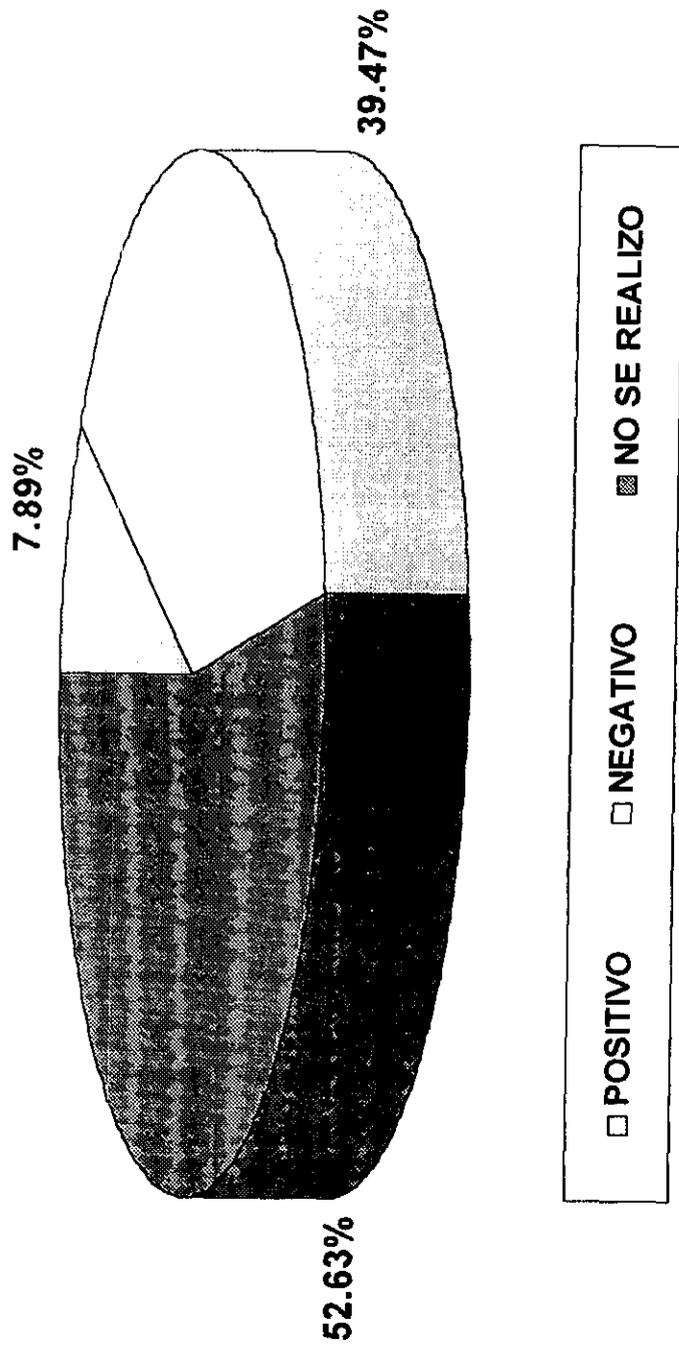


FIG. 7. CULTIVO PARA TUBERCULOSIS

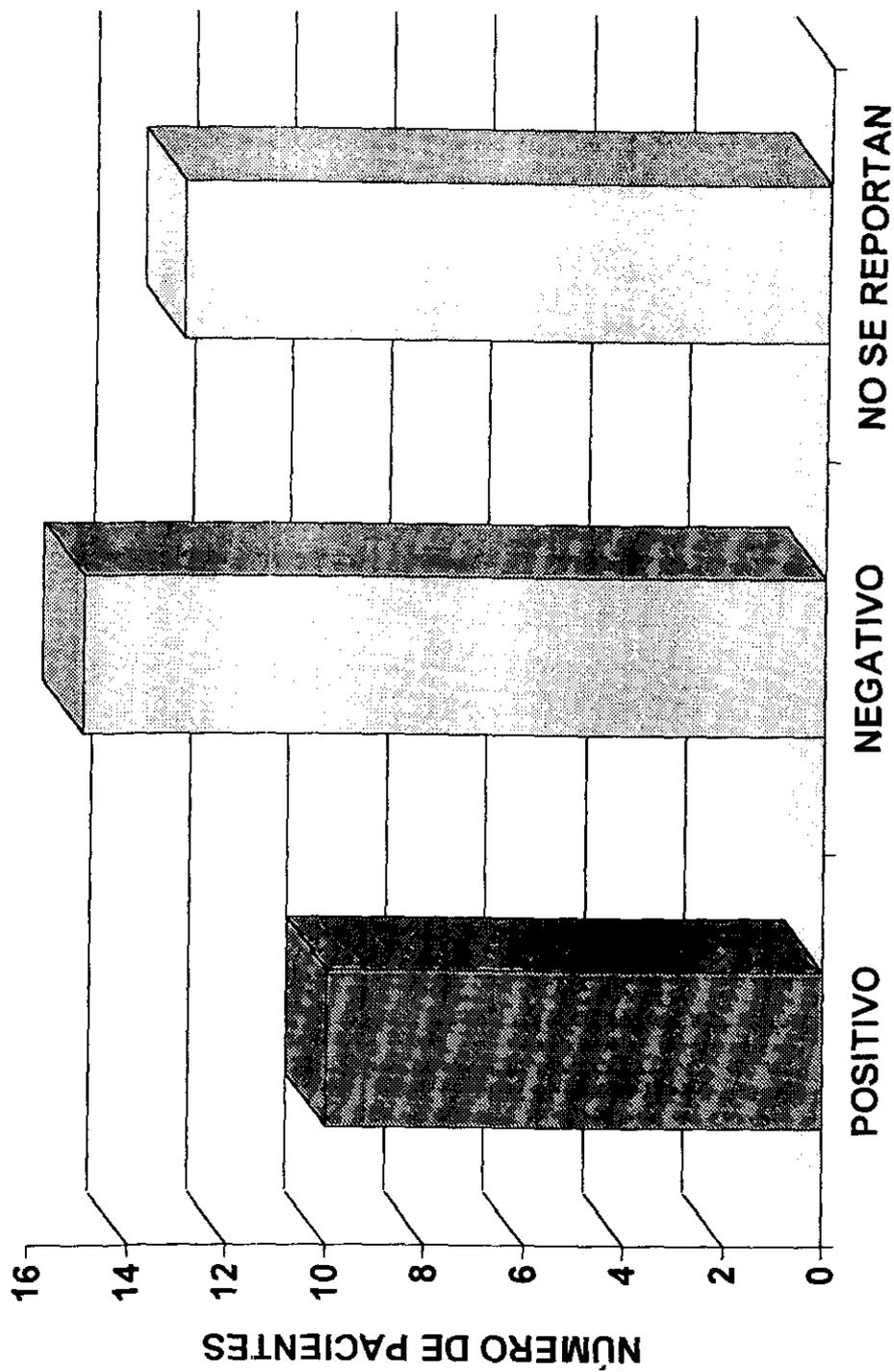
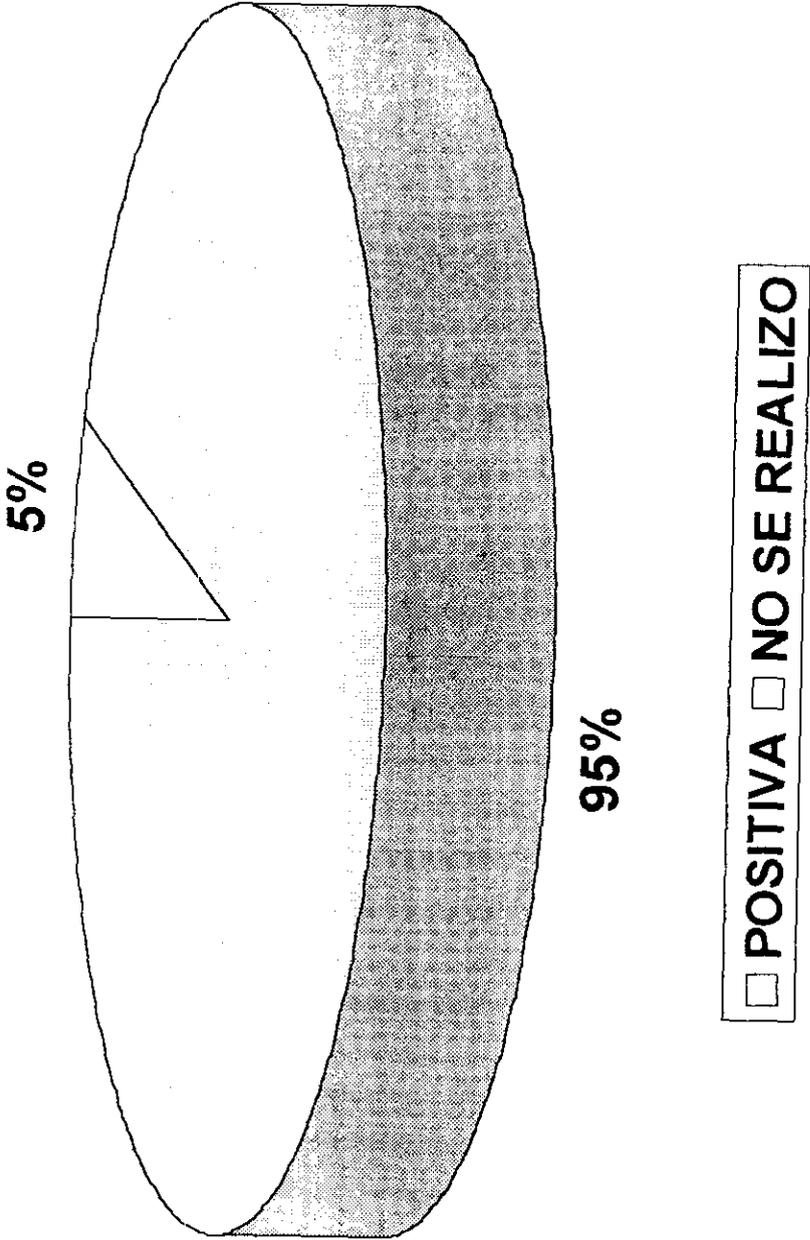


FIG. 8. BIOPSIA PULMONAR



En la **figura 9** se muestran los resultados del reporte de PCR en lavado gástrico, realizado sólo en 30 pacientes de los 38. Fue positivo en 13 pacientes, observando un 34.21%. Los casos negativos son 17, lo que representa un 44.74%. Este estudio no se realizó en 8 pacientes (21.05%).

Así como la figura anterior, en la **figura 10** se muestran los resultados de PCR en lavado bronquial realizado en 14 pacientes. En 5 de los estudios realizados fueron positivos 13.16%. El reporte negativo fue en 9 casos, es decir un 23.38%; por último, no se realizó el estudio en 24 pacientes (63.16%).

La **figura 11** describe los datos de PCR en realizados en orina; este estudio se realizó en un solo paciente (2.63%), con sospecha de daño renal con repercusión pulmonar; en los restantes 37 pacientes (97.37%), no se realizó el análisis en este tipo de muestra.

En la **figura 12** se muestran los resultados obtenidos de PCR en líquido cefalorraquídeo de 5 pacientes analizados. Se observa positivo en 3 pacientes de los 38 (7.89%); se observó negativo en 2 pacientes (5.26%); en 33 de los 38 pacientes, no se realizó la prueba (86.84%).

En la **figura 13** se muestra el PCR realizado en el líquido pleural, este estudio se desarrolló en solo un paciente con diagnóstico de pleuresia fímica (2.63%); en los restantes 37 pacientes no se realizó el estudio (97.37%).

FIG. 9. PCR EN LAVADO GASTRICO

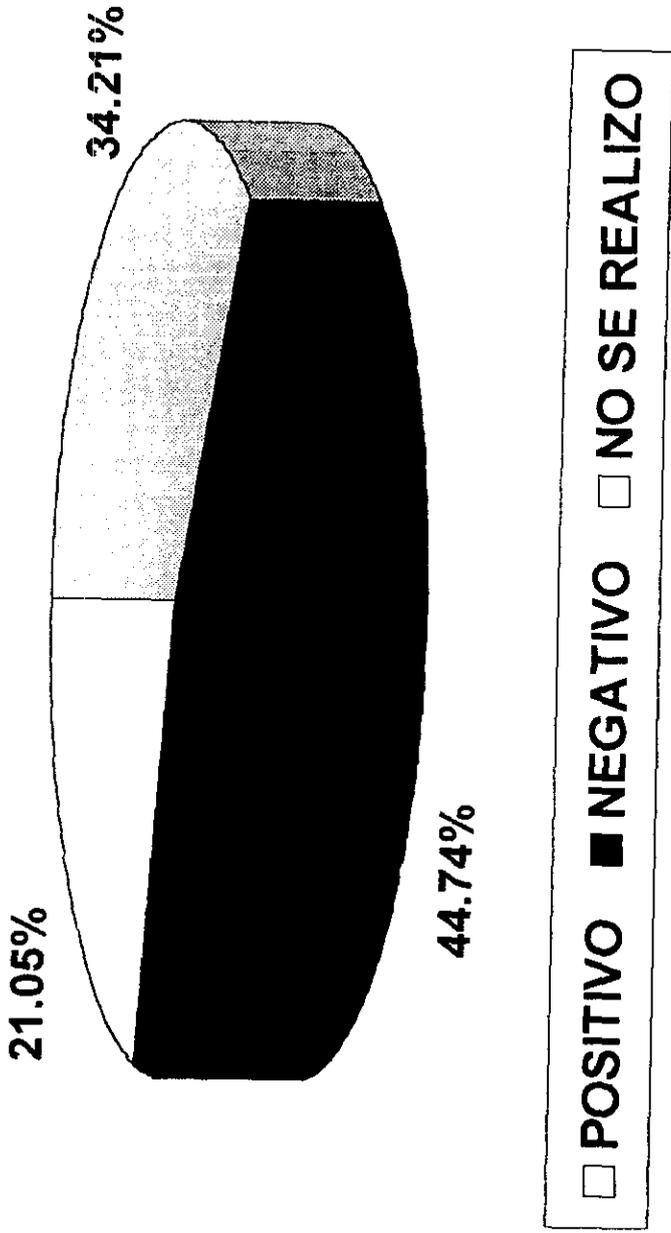
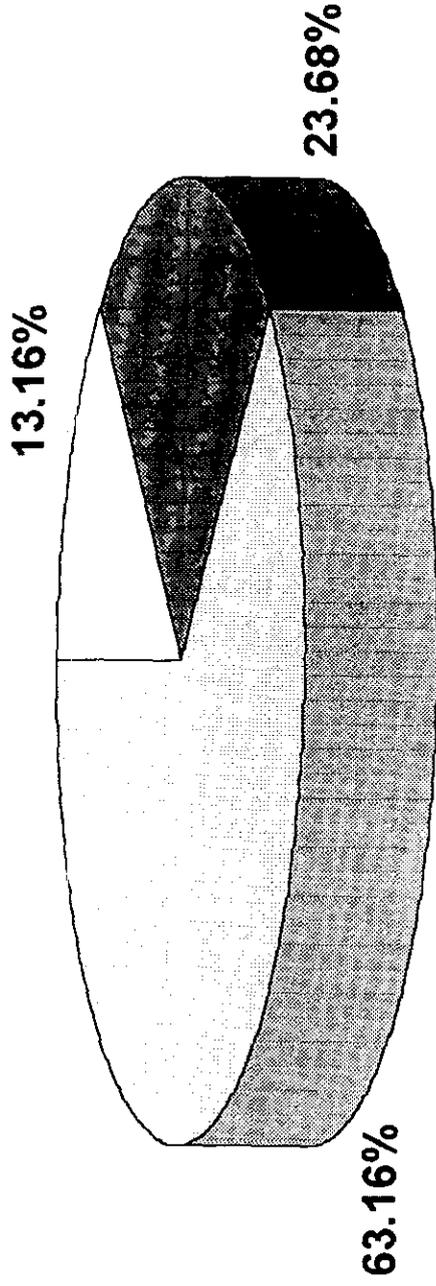
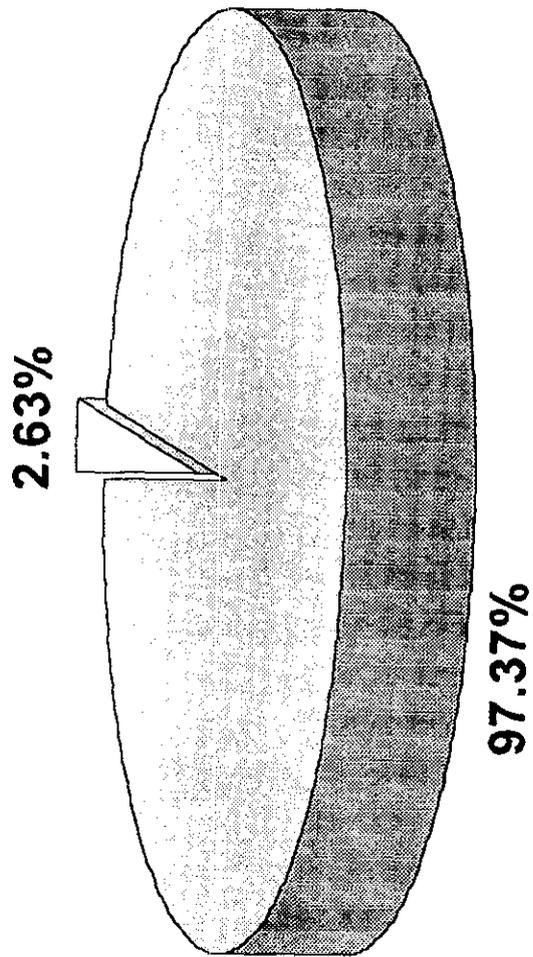


FIG. 10. PCR EN LAVADO BRONQUIAL



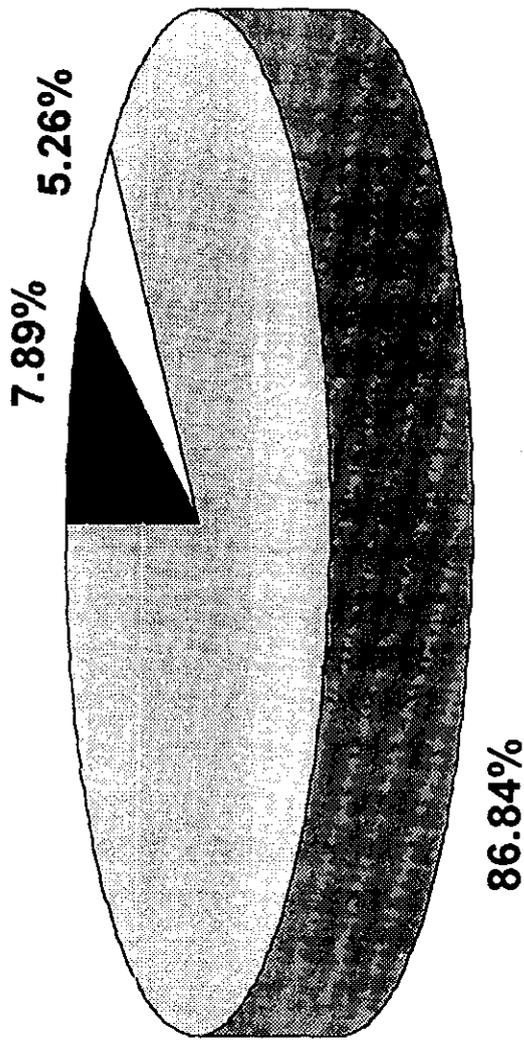
□ POSITIVO ■ NEGATIVO □ NO SE REALIZO

FIG. 11. PCR EN ORINA



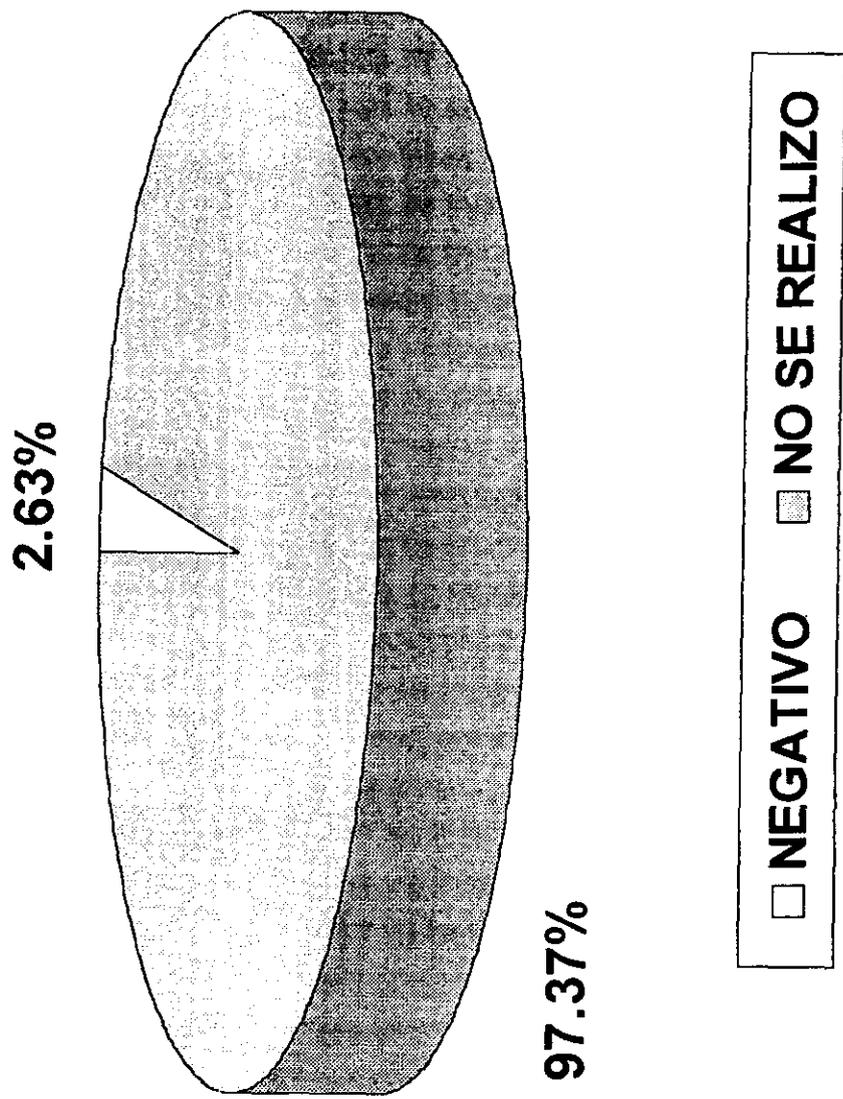
- NEGATIVO
- NO SE REALIZO

**FIG. 12.PCR EN LIQUIDO
CEFALORRAQUIDEO**



■ POSITIVO □ NEGATIVO □ NO SE REALIZO

FIG. 13. PCR EN LIQUIDO PLEURAL



6. DISCUSIÓN

La presente tesis mostró datos recolectados por primera vez con pacientes de tuberculosis pulmonar en el Instituto Nacional de Enfermedades respiratorias en las cuales se toma PCR en diferentes tejidos para valorar la utilidad del mismo.

Uno de los primeros datos importantes que se recolectaron fueron los criterios de diagnóstico para la tuberculosis pulmonar dados por Toledo^(4,5) y los de Kaplan⁽⁴⁾. Los pacientes fueron diagnosticados con un puntaje de certeza del 63.16% en ambos criterios diagnósticos el resto se diagnostica por otro tipo de método diagnóstico (biopsia, ELISA para tuberculosis, Cultivos para tuberculosis y PCR en los diferentes tejidos).

La aplicación de BCG se encontró positiva en 23 pacientes, pero existe un gran número de pacientes (14 pacientes) en la cual es dudosa y eso dificulta la certeza de el porcentaje. No se pudo obtener la edad de los pacientes inmunizados, ya que como sabemos los pacientes en aquellos que se ha aplicado la vacuna solo dura la protección de la misma un periodo de 5 años en promedio^(7,8).

Los resultados obtenidos de positividad de ELISA para VIH en pacientes con tuberculosis solo fueron 3 de 18 muestras. Los reportados en la literatura de asociación VIH-Tuberculosis pulmonar y extrapulmonar son elevados^(1,2,7,8). Creo que hubiera sido importante indagar en el resto de los pacientes a los cuales no se

realizo la muestra, ya que alguno o algunos de estos pacientes pudo haber tenido asociación con el virus del SIDA y en este caso tener desconocimiento del mismo.

Otro estudio importante y que debe ser rutinario en los pacientes con tuberculosis pulmonar es ELISA en sangre para tuberculosis. Se realizo el mismo en 14 muestras teniendo un resultado positivo de 9(64.2%) este resultado es alto , pero este tipo de estudio no presenta una buena sensibilidad y especificidad comparado con el PCR además de presentar falsos positivos en pacientes con inmunización previa con BCG , así como algunas formas de tuberculosis extrapulmonares^(1,2).

Los reportes de cultivos en expectoración así como lavado bronquial fueron 10 de 25 muestras(40%).Este estudio reporta una gran utilidad en su especificidad y sensibilidad pero presenta una gran desventaja que es, el tiempo en que se reportan los estudios , que va de 2 hasta 8 semanas tomada la muestra^(1,2). Por lo que se pierde un tiempo valioso pudiendo dar tratamiento oportuno al paciente. Sin embargo en la actualidad no se ha podido superar por ningún método o estudio el diagnostico de tuberculosis pulmonar^(1,2,7,8).

Se estudiaron 2 muestras de biopsia pulmonar en pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar sin diagnostico y en los cuales solo por este medio se realizo el mismo. Es un método muy útil y fidedigno , pero presenta la gran desventaja de ser demasiado agresivo para el paciente y con un gran numero de complicaciones; como podrían ser neumotórax, sobrecontaminación, uso de procedimiento

anestésico entre otros^(7,8). Por lo que su uso solo queda, como ultimo medio para el diagnostico de tuberculosis pulmonar.

Se tomaron PCR en diferentes tejidos de los cuales se describirá cada uno de ellos:

En lavado gástrico tomando 30 muestras de las cuales solo 13 son positivas (43.3%), este estudio tiene una gran sensibilidad y especificidad ya demostrados^(1,2,9,10,12,17), pero requiere una gran infraestructura así como metodología para su buena realización describiendo falsas positivas y falsas negativas por la literatura^(1,2,3,12,16).

Las falsas positivas se producen por contaminación en los diferentes medios de transportación , como contaminación en los diferentes laboratorios donde se puede realiza el estudio y deficiencia en la metodología^(1,2,3,12,16).

Es importante comentar que hasta hace un año aproximadamente se depura la técnica de toma de muestras para PCR en el INER. Actual mente se toma con técnica estéril , con frascos nuevos y no reesterilizados . El reporte en promedio se da dependiendo del día de toma de la muestra de 36 a 72 horas.

El resultado obtenido de PCR en lavado bronquial fue de 5 muestras positivas de 14 realizadas (35.71%). Lo relevante de este estudio fue que 3 de estos 14 pacientes no se habían realizado estudio previo de lavado gástrico sino sólo se realizó el lavado bronquial. Sumando a esto 33 pacientes en total que se realizo PCR en lavado gástrico y lavado bronquial teniendo positivo a 16 (48.48%). No teniendo aún un

resultado como el reportado en la literatura , pero creo que con el paso del tiempo será importante este tipo de estudio el cual podrá acortar el tiempo de espera para dar un tratamiento oportuno , así como un diagnostico certero.

Una desventaja en el procedimiento de lavado bronquiol, que para el mismo se requiere, que la muestra sea tomada con fibrobroncoscópico flexible, así como de uso de procedimiento anestésico , con esto teniendo un riesgo quirúrgico para el paciente.

Se han reportado en la literatura *falsas negativas* a pesar de tener tuberculosis activa en un 7% de la población a la que se practica el estudio⁽²⁾. Esto es importante señalar que nuestras muestras donde existió una gran cantidad de PCR negativos y que posible mente pudieron ser positivos al repetir la muestra en algunos pacientes donde realizo un doble estudio de PCR siendo el primero negativo pero debido a la gran carga para pensar en tuberculosis se practico por segunda vez ya sea en lavado gástrico o en lavado bronquial siendo positivo en algunas ocasiones el segundo estudio.

Se realizó PCR en orina en un paciente el cual se sospechaba la posibilidad de Tuberculosis renal ya con repercusión pulmonar pero este estudio fue negativo.

Se practico PCR en 5 pacientes con sospecha de meningitis tuberculosa los cuales 3 son positivos y tenían repercusión pulmonar siendo de gran utilidad el mismo ya que no se esperó a el cultivo de líquido cefalorraquídeo para tuberculosis.

El último estudio realizado es PCR en líquido pleural en un paciente con pleuresía fímica el cual fue negativo.

El total de procedimientos de PCR realizados fueron 38, con una positividad en los diferentes tejidos de 55.2% sumadas todas las muestras.

Este estudio descriptivo nos muestra que el diagnóstico de tuberculosis pulmonar por PCR, es útil siempre y cuando se obtenga la muestra en lavado gástrico y lavado bronquial; aunque el ideal es el lavado bronquial, tiene la desventaja de ser un procedimiento más invasivo que el lavado gástrico.

El método de PCR también fue de gran utilidad en aquellos pacientes en los cuales no se tenía un diagnóstico de certeza, con los procedimientos habituales, y con este método se obtuvo un diagnóstico final de tuberculosis pulmonar.

Pero a pesar de lo anterior mente comentado el diagnóstico de Toledo y Kaplan para tuberculosis pulmonar continúa superando de 63.16% contra un 55.2% del PCR. Por lo que podemos decir que la metodología para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar por este tipo de métodos no ha superado en la actualidad a los ya descritos, como son los criterios de Kaplan y Toledo.

7. CONCLUSIONES

1. De las 30 muestras de lavado gástrico, en donde se realizó el estudio de PCR, se obtuvo una positividad del 43.3%.
2. De las nueve muestras de lavado bronquial, en donde se analizó por PCR, se obtuvo una positividad del 35.71%.
3. De los 33 pacientes a los cuales se les realizó PCR en lavado gástrico y bronquial, se observó positivo en 16 pacientes, lo cual representó el 48.48%.
4. De los 38 pacientes a los cuales se les realizó el estudio de PCR, se observaron positivos 55.2% de los pacientes.
5. El presente estudio muestra un porcentaje bajo de positividad en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar por PCR, información contraria a lo que se esperaba por lo referido en la literatura internacional. Superado por los criterios para diagnóstico de Kaplan y Toledo.
6. Sin embargo, el presente estudio muestra que el diagnóstico de tuberculosis pulmonar por el método de PCR, es rápido y efectivo, sugiriendo sea utilizado como el método de primera elección para el diagnóstico oportuno de esta enfermedad, con precaución en el manejo y análisis de la muestra.
7. Es importante mencionar que este estudio muestra la necesidad de realizar estudios prospectivos en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, relacionados con el PCR, cuidando el desarrollo de la metodología, desde la toma de la muestra, hasta su análisis final.
8. En este tipo de metodología posiblemente falta aun mucha información en pacientes pediátricos para ser de ella un método confiable.

8. REFERENCIAS

1. Heifets L. Mycobacteriology laboratory. Clin Chest Med, 1997; 18(1):35-53.
2. Inselman LS. Tuberculosis in children: An update. Pediatr Pulmonol, 1996; 21:101-20.
3. Burman WJ, Stone BL, Reves RR y cols. The Incidence of False-positive Cultures for *Mycobacterium tuberculosis*. AM J Respir Crit Care Med 1997; 155:321-26.
4. Toledo GA, Kartz AF, Montiel VJ y cols. Criterios de diagnóstico en tuberculosis infantil. Rev Mex Pediatr 1979; 239-43.
5. Pérez FL, Ridaura SC, Gómez CR y cols. Bases para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar en el niño. Bol Med Hosp Infant Mex 1994; 41(3):155-61.
6. Toledo GA. Patogenia y formas clínicas de la tuberculosis infantil, Curso Monográfico sobre Tuberculosis infantil, 1996.
7. Kendig's. Tuberculosis. En :Kedig's, ed. Disorders of the respiratory tract in children. 6ª ed. Philadelphia, Pennsylvania USA: W;B; Sauders Company, 1998:883-915.
8. Hilman CB. Pulmonary tuberculosis and tuberculous infection in infants, children, and adolescents. Hilman CB, ed. Pediatric respiratory disease. Philadelphia, Pennsylvania USA. Sauders Company, 1993:311-20.
9. Thoe SY, Tay L, Sng EH. Evaluation of amplicor and IS6110 for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in Singapore. Trop Med Intern Healt. 1997; 2(11):1095-100.
10. Hass WD. Current and future applications of Polymerase Chain Reaction for *Mycobacterium tuberculosis*. Mayo Clin Proc. 1996; 71:311-13.

11. Mustafa AS, Ahmed A, Abai T y cols. Establishment and evaluation of a multiplex polymerase chain reaction for detection of mycobacteria and specific identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Tubercle and Lung Disease*. 1995; 76:336-43.
12. Starke CK, Eisenach K, Ong LT. y cols. PCR for *Mycobacterium tuberculosis*. *Pediatrics* 1966; 97:155-60.
13. Sinclair K, Challans AJ, Kazmala RR y cols. A multiplex polymerase chain reaction for distinguishing *Mycobacterium tuberculosis* from *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Molecular and Cellular Probes*. 1995; 9:291-95.
14. Cartuyvels R, Ridder C, Jonckheere S y cols. Prospective Clinical Evaluation of Amplicor *Mycobacterium tuberculosis* PCR test as a Screening Method in a Low Prevalence Population. *J Clin Microbiol*. 1996; 34; 2001-2003.
15. Diaz ML, Herrera T, Lopez VY y cols. Polymerase chain reaction for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in tissue and assessment of its utility in the diagnosis of hepatic granulomas. *J Lab Clin Med* 1996; 127:359-63.
16. Trinker M, Höfler G, Sill H. False positive diagnosis of tuberculosis with PCR. *The Lancet* 1996; 348(6):388.
17. Roth A, Schaberg T, Mauch H. Molecular diagnosis of tuberculosis: current clinical validity and future perspectives. *Eur Respir J* 1997; 10:1877-91.
18. Kent L, McHUGH D, Billington O y cols. Demonstration of homology between IS6110 of *Mycobacterium* and DNAs of Other *Mycobacterium* sp. *J Clin Microbiol* 1995 ;33(9): 2290-93.

19 Simonney N, Labrousse H, Ternynck T y cols. Recycling of Elisa plates for the serological diagnosis of tuberculosis usig a *Mycobacterium tuberculosis* specific glycolipid antigen. J of Inmuncological Methods 1996; 199:101-105.

