



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACION



CIUDAD DE MEXICO

SECRETARIA DE SALUD DEL DISTRITO FEDERAL  
DIRECCION DE EDUCACION E INVESTIGACION  
SUBDIRECCION DE FORMACION DE RECURSOS HUMANOS  
UNIDAD DEPARTAMENTAL DE ENSEÑANZA DE POSTGRADO  
CENTRO DERMATOLOGICO "DR. LADISLAO DE LA PASCUA"

20

CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACION EN  
DERMATOLOGIA

EFICACIA DE LA PCR PARA EL DIAGNOSTICO  
DE TUBERCULOSIS CUTANEA

TRABAJO DE INVESTIGACION  
CLINICO - INMUNOLOGICO

PRESENTADO POR: DRA. LARISSA DORINA LOPEZ CEPEDA  
PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN DERMATOLOGIA

DIRECTORA: DRA. OBDULIA RODRIGUEZ R.

DIRECTORES DE TESIS: DRA. MA. DEL CARMEN PADILLA D.  
DRA. JOSEFA NOVALES SANTA COLOMA  
DR. ALEJANDRO ESCOBAR GUTIERREZ

MEXICO

2002

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



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**

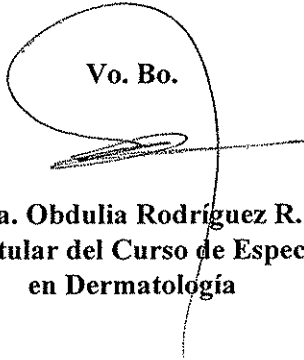
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

**Evaluación de la eficacia de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el diagnóstico de tuberculosis cutánea**

**Dra. Larissa Dorina López Cepeda**

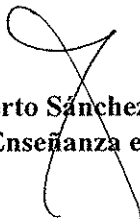
**Vo. Bo.**



**Dra. Obdulia Rodríguez R.**  
**Profesora Titular del Curso de Especialización**  
**en Dermatología**



**Vo. Bo.**



**Dr. Roberto Sánchez Ramírez**  
**Director de Enseñanza e Investigación**

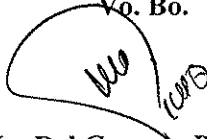
**DIRECCION DE EDUCACION  
& INVESTIGACION  
SECRETARIA DE  
SALUD DEL DISTRITO FEDERAL**



**CIUDAD DE MEXICO**

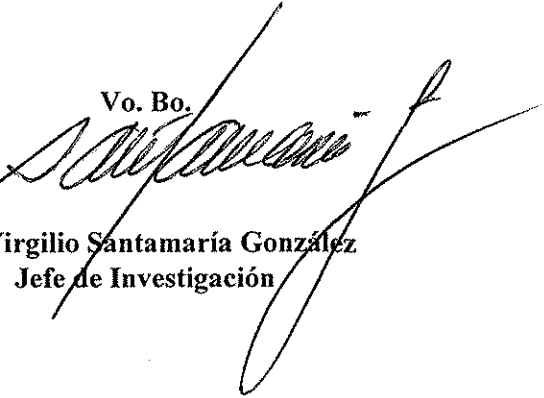
**SECRETARIA DE SALUD**  
Servicios de Salud Pública del Distrito Federal  
CENTRO DERMATOLOGICO  
"DR. LADISLAO DE LA PASCUA"  
DIRECCION

Vo. Bo.



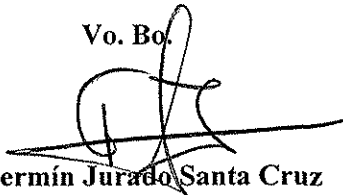
**Dra. Ma. Del Carmen Padilla Desgarenes**  
**Jefa del Laboratorio de Micología**

Vo. Bo.



**Dr. Virgilio Santamaría González**  
**Jefe de Investigación**

Vo. Bo.



**Dr. Fermín Jurado Santa Cruz**  
**Jefe de Enseñanza y Profesor Adjunto**

*GRACIAS A TODOS LOS QUE  
HICIERON POSIBLE ESTA TESIS.*

*QUE ESTE TRABAJO SEA UN GRANTO DE ARENA  
EN EL VASTO OCÉANO DEL CONOCIMIENTO.*

*A TI, QUE ME HARAS EL HONOR DE LEER  
ESTE ESTUDIO ESPERO TE SEA UTIL.*

CONTENIDO

<b>1. JUSTIFICACION:</b> .....	3
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	4
GENERALIDADES:.....	4
HISTORIA: .....	5
EPIDEMIOLOGIA: .....	7
FACTORES DE RIESGO DE ADQUISICIÓN DE LA ENFERMEDAD.....	10
CARACTERISTICAS DE LA BACTERIA: .....	12
<i>Generalidades</i> .....	12
<i>Mecanismos de daño tisular</i> .....	14
<i>Mecanismos de evasión bacterianos</i> .....	16
TUBERCULOSIS INFECCION : .....	17
TUBERCULOSIS CUTÁNEA : .....	20
<i>Clasificación de tuberculosis cutánea</i> .....	20
<i>Aspectos clínicos</i> .....	22
<i>Diagnostico diferencial en las tuberculosis cutáneas:</i> .....	27
RESPUESTA INMUNE EN TUBERCULOSIS.....	28
BCG: .....	32
TUBERCULINA.....	32
<i>Reaccion de mantoux - tuberculina:</i> .....	32
<i>Otras cuti-reacciones</i> .....	34
DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS.....	35
REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	40
TRATAMIENTO:.....	42
<i>Esquema de la oms y de la n.o.m. 1998</i> .....	44
<i>Evaluacion de tratamiento</i> .....	47
<b>3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	48
<b>4. OBJETIVO GENERAL:</b> .....	48
<i>4.1 objetivos específicos:</i> .....	48
<b>5. MATERIAL Y METODOS:</b> .....	49
<i>5.1 plan de trabajo</i> .....	50
<i>5.2 tipo de estudio</i> .....	50
<i>5.3 población</i> .....	50
<i>5.4 tamaño de la muestra /periodo del estudio</i> .....	50
<b>6.VARIABLES A ESTUDIAR</b> .....	51
<b>7. ASPECTOS ETICOS</b> .....	52

<b>8. RECOPIACION Y PROCESAMIENTO DE DATOS</b> .....	53
<i>8.1 analisis y analisis estadistico</i> .....	53
<b>9. ADMINISTRACIÓN</b> .....	54
<i>9.1 participantes:</i> .....	54
<b>10. UTILIZACIÓN DE LA INFORMACION</b> .....	55
<b>11. RESULTADOS</b> .....	56
CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS: .....	56
<i>Sexo</i> .....	56
<i>Edad</i> .....	56
<i>Estado civil</i> .....	57
<i>Escolaridad</i> .....	57
<i>Lugar de origen y residencia</i> .....	57
DIAGNÓSTICO CLÍNICO .....	57
ANTECEDENTES PARA TUBERCULOSIS .....	58
OTROS ANTECEDENTES DE IMPORTANCIA: .....	59
ESTUDIOS HISTOPATOLOGICOS .....	60
PPD.....	62
BAAR.....	62
CULTIVO .....	62
ELISA Y WB .....	63
PCR.....	64
OTROS DATOS DE LABORATORIO.....	65
<b>12. DISCUSIÓN</b> .....	<b>66</b>
<b>13. CONCLUSIONES</b> .....	<b>73</b>
<b>14. ANEXOS</b> ANEXO 1 - FASES DE SELECCION: .....	74
ANEXO 2 - CRITERIOS DE INCLUSIÓN / EXCLUSIÓN.....	74
ANEXO 3 – CARTA DE CONSENTIMIENTO .....	75
ANEXO 4 – HISTORIA CLINICA .....	76
ANEXO 5 – LABORATORIOS GENERALES.....	76
ANEXO 6 –PRUEBAS SEROLOGICAS (ELISA Y WB) .....	77
ANEXO 7 – INTRADERMORREACCION CON PPD.....	79
ANEXO 8 – BACIOSCOPIAS .....	80
ANEXO 9 – BIOPSIA .....	80
ANEXO 10 – TECNICA PARA EL ANALISIS HISTOPATOLOGICO GENERAL .....	81
ANEXO 11 – TECNICA PARA LA EXTRACCION DE DNA Y AMPLIFICACION POR PCR EN PIEL .....	84
ANEXO 12 - TECNICA PARA EL CULTIVO DE MUESTRAS EN MEDIO LOWENSTEIN JENSSEN .....	87
<b>15. REFERENCIAS</b> .....	89

## **1. JUSTIFICACION:**

Debido a las condiciones socioeconómicas y culturales prevalentes en la población<sup>1</sup>, se señala una elevada incidencia de la tuberculosis cutánea y extracutánea mexicana; por otra parte es difícil apoyar el diagnóstico clínico de tuberculosis cutánea en pacientes con manifestaciones clínicas sugerentes de la enfermedad y en quienes la determinación del foco tuberculoso primario es difícil de determinar<sup>2</sup>. Se ha recurrido a múltiples técnicas de laboratorio y se requiere probar técnicas de mayor sensibilidad y especificidad que apoyen el diagnóstico clínico-patológico en las tuberculosis cutáneas.

En el Centro Dermatológico Pascua, que es un sitio de concentración de pacientes de diversas localidades de la República Mexicana, se tiene una incidencia de tuberculosis cutánea de 1.4%<sup>3</sup>, comunicándose en los 2 últimos años 82 casos nuevos (36 de 2674 estudios histopatológicos en el 2000 y 46 de 2673 en el 2001).

Se han realizado en nuestro Centro, dos estudios de empleo de PCR para diagnóstico de la tuberculosis cutánea, uno de ellos motivo de tesis de la especialidad (PCR en tuberculosis nodular profunda<sup>4</sup>) y el otro para tesis de doctorado (PCR para el estudio de tuberculides<sup>5</sup>). En nuestro Centro Dermatológico no se ha aplicado este método diagnóstico en todos los casos clínicamente sospechosos de tuberculosis cutánea, debido a que no se cuenta con el equipo para su realización, su costo en pequeños volúmenes es elevado y se requiere de una muestra significativa de casos clínicamente sospechosos de la enfermedad.

Como modificación de los estudios previos en el Centro, utilizaremos tejido fresco o congelado inmerso, para su traslado, en solución fisiológica, ya que consideramos que evitamos de esta forma el riesgo de degradación y desnaturalización de las proteínas al fijarse la pieza en formol y ser procesadas por parafina.



## **2. ANTECEDENTES**

### **GENERALIDADES:**

La tuberculosis humana es una enfermedad originada por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, ocasionalmente por *Mycobacterium bovis* y el bacilo de *Calmette Guerin* atenuado<sup>6 7</sup> y en una insignificante proporción de casos por micobacterias atípicas como *M. Fortuitum*<sup>1</sup>.

Es una enfermedad cosmopolita, afecta todos los órganos de la economía debido a diversos factores como la patogenicidad de la bacteria, susceptibilidad del huésped y factores ambientales; todos ellos interactúan para causar la enfermedad<sup>8</sup>.

El bacilo puede permanecer viable durante muchos años en los tejidos de las personas sanas, no obstante posterior a permanecer "inactivo durante años" puede producir enfermedad y si se introduce en una población que estaba poco protegida puede también ocasionar epidemias<sup>1</sup>.

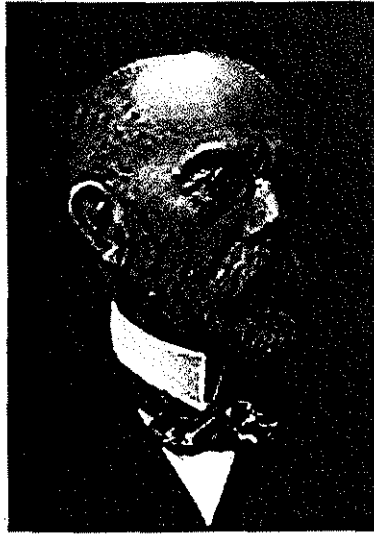
## **HISTORIA:**

Se desconoce el tiempo en que el hombre se infectó con micobacterias ya que incluso en esqueletos humanos prehistóricos, del año 8000 a.C. encontrados en Alemania y en esqueletos egipcios de 2500 y 1000 a.C., se encuentran datos de enfermedad de Pott; asimismo existen documentos hindúes y chinos que hacen referencia de la tuberculosis<sup>8 9</sup>.

Es hasta la Edad Media que se empiezan a tener comunicaciones sobre la misma, teniendo como terapéutica diversos remedios como: el toque real, en el que el enfermo curaba al ser tocado por algún representante divino. En los siglos XVI y XVII se hace diagnóstico de lupus vulgar en cualquier úlcera que destruyera tejidos; cuando esta úlcera destruía tejidos centofaciales, daba un aspecto de lobo, lo que dio pie al nombre de lupus vulgar; a este tipo de tuberculosis se daba tratamiento con sangrías<sup>8</sup>. En el siglo XVIII Villemin comienza a considerar la etiología infecciosa como causante del lupus vulgar.

Diversos autores, entre otros Sehgal<sup>10</sup> y Fariña<sup>11</sup> se han dedicado a la descripción de algunos aspectos históricos de la tuberculosis cutánea y señalan que: Juan Manardusm (1462-1536) describió el lupus vulgar con afección en miembros inferiores; Bayle descubre que la enfermedad puede afectar todo el organismo; Robert Willan (1757-1812) describe una variante de lupus facial con ulceración y Allibert (1768-1837) modifica su nombre a "dartre rongeante" (dartos roedor), además de dividirla en tres tipos; en 1826 Laennec publicó el primer caso de tuberculosis cutánea verrugosa y Bazin da su nombre al eritema indurado en 1861, incluyéndolo también en las tuberculides. En 1864 Villemin considera la etiología infecciosa de la tuberculosis, dados sus experimentos de inoculación en animales; no obstante es hasta 1882 que Koch<sup>12</sup> (fig. 1) descubre al bacilo causante de la enfermedad y Jacobi demuestra el bacilo en las tuberculides de la cara.

Es a inicios del siglo pasado que se empiezan a considerar factores sociales e individuales como implicados en la etiopatogenia de la enfermedad; en 1921 se desarrolla la vacuna BCG por Calmette y posterior a esa fecha se inicia el desarrollo y síntesis de diversas drogas, que prevalecen hasta nuestros tiempos como tratamiento de la enfermedad.<sup>13</sup>



**Fig. 1 . Roberto Koch, descubridor del bacilo tuberculoso.**

Fotografía tomada de Internet

En México los esfuerzos por el control de tuberculosis se han observado desde inicios del siglo pasado<sup>14</sup>, siendo las campañas mas intensas desde 1930 en que por decreto del entonces presidente Abelardo L. Rodríguez, se inicia la campaña antituberculosa y es hasta 1994 que queda asentado el esquema de tratamiento en la Norma Oficial Mexicana de Prevención y Control de la Tuberculosis. En 1995 quedan incluidos en el Diario Oficial de la Federación<sup>15</sup>, conceptos generales sobre tuberculosis y tratamiento de la misma; no obstante no se contempla a la afección cutánea. En mayo de 1998, se realiza una revisión de la Norma Oficial Mexicana, por parte de la Subsecretaría de Prevención y Control de Enfermedades de la Secretaría de Salud, para la prevención y control de la tuberculosis en atención primaria a la salud (NOM-006-SSA2-1993), con el objeto de estandarizar criterios para el diagnóstico y tratamiento de casos con la enfermedad tanto pulmonar como extrapulmonar<sup>16</sup>.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **EPIDEMIOLOGIA:**

La OMS considera que la incidencia de la enfermedad se ha incrementado en aproximadamente 30%, esperando para el año 2000, 10.2 millones de enfermos y 3.5 millones de muertes relacionadas con la tuberculosis.<sup>17</sup> De acuerdo a Scholossberg, la prevalencia de la infección va del 2-8%<sup>8</sup>.

La tuberculosis se presenta durante períodos epidémicos de décadas a centurias, en los cuales se hace una selección natural de individuos susceptibles (en períodos de aproximadamente 300 años), de forma que, una vez que mueren los individuos susceptibles, los sobrevivientes son relativamente más resistentes y la epidemia declina.

Estos períodos epidémicos se dividen según Grigg<sup>8</sup> en 3 curvas:

1. Mortalidad, en donde ocurre la eliminación de los individuos susceptibles y los sobrevivientes son relativamente más resistentes, por lo que la epidemia declina.
2. Morbilidad, ocurre enfermedad en los más resistentes.
3. Infecciones no aparentes, es decir, hay infección sin enfermedad en los individuos más resistentes.

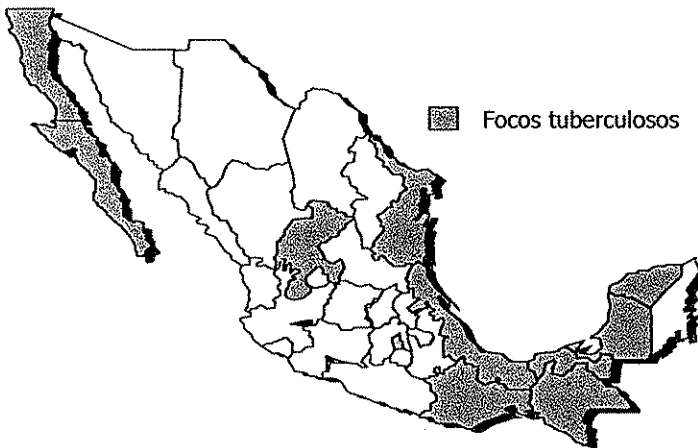
Para el análisis epidemiológico en algunos países como España, se ha recurrido a tipificación mediante análisis de polimorfismo por restricción del fragmento largo de las cadenas de *M. tuberculosis*, con inserción de la secuencia IS6110 (marcador genético para la variabilidad cadenas de *M. tuberculosis*)<sup>18</sup>, encontrando un constante aumento en la transmisión de tuberculosis, tanto entre pacientes infectados por HIV, como en pacientes adultos jóvenes sin esta infección, de forma que si continúan sin implementarse medidas efectivas de prevención de tuberculosis entre pacientes infectados con HIV<sup>19</sup>, habrá mayor número de enfermos incluso en la población general.

En 1995 se determinó que el 63.6% de casos de tuberculosis en el mundo se encontraban en México y otros seis países (Haití, India, China, Filipinas y Vietnam)<sup>8</sup>.

En México se ha demostrado declinación lenta de la enfermedad desde 1930, con un leve incremento en el número de casos en la década de los 90's, siendo este incremento del 8% en los años 1993-1994, para tuberculosis pulmonar. Para 1963 se mencionaba una

incidencia de 3 a 3.5% de casos de tuberculosis en el Hospital General de México, con una mortalidad del 1-2%<sup>20</sup>.

En nuestro país los focos tradicionalmente activos de tuberculosis se encuentran en áreas húmedas subtropicales como los estados de Veracruz y Chiapas y aquellos con Costas al Océano Pacífico y las Huastecas, además de áreas urbanas de crecimiento demográfico expansivo como Tijuana, Tampico, la Paz y la Ciudad de México, en donde por la gran concentración de población, hay doble riesgo de propagadores y receptores de la infección<sup>1</sup>.



**Fig. 2 Focos tuberculosos en México**

Se considera que la tuberculosis cutánea ocupa entre el 4º y 5º lugar de incidencia de tuberculosis (1-3% de casos por cada 114 pacientes que acuden a la consulta de piel, en el Hospital General de México)<sup>21</sup>. Diversos estudios corroboran esta incidencia, algunos de estos son:

En el período de 1947-1952 en la consulta externa de Dermatología del Hospital General, Escalona y Estrada encontraron una incidencia de 2.6% de tuberculosis cutánea<sup>22</sup> y Amezquita<sup>20</sup> en el periodo de 1958 a 1962, en un estudio realizado en el Centro Dermatológico Pascua y el Hospital General de México, encontró 0.87% de casos de la

enfermedad en una población de 25 871 pacientes, similar al 0.47% de casos encontrados por Aceves Ortega<sup>23</sup> en Guadalajara en el período de 1951-1971.

En el Centro Dermatológico Pascua los estudios de Parra en 1982<sup>24</sup> refieren una frecuencia de 2.87% de tuberculosis cutánea de 1964-1981; Padilla señala una frecuencia de 2.14% en el período de 1985-1988<sup>25</sup> y Rodríguez Peñaloza en el 2001<sup>3</sup>, comunica una incidencia de 1.4% en los últimos 15 años (1986- 2000).

## **FACTORES DE RIESGO DE ADQUISICIÓN DE LA ENFERMEDAD**

Es universalmente aceptado que la tuberculosis es frecuente en países en vías de desarrollo, debido a que hay pobres condiciones de vida, no se cumple al 100% la vacunación con bacilo Calmette Guerin (BCG), ni existe una terapéutica antifúngica eficaz, ya que se ha generado resistencia por parte de las bacterias a los diversos medicamentos, debido principalmente, al incumplimiento por parte del paciente en la toma del tratamiento<sup>26 27</sup>.

La industrialización y sobrepoblación en las ciudades, pueden ser factores que incrementen las posibilidades de generar una epidemia, pues aumenta el número de individuos susceptibles y la transmisión de la bacteria a nuevos huéspedes, además de que el "stress" fisiológico suele ser mayor en la ciudad, lo que disminuye la resistencia del individuo a la infección. Asimismo se presentan condiciones socioeconómicas deplorables y de hacinamiento óptimas para la transmisión de la enfermedad (relación inversamente proporcional entre el estatus socioeconómico y la morbilidad).

Otros factores que contribuyen a la transmisión de la enfermedad en las ciudades, son la presencia de numerosos grupos con diferencias raciales, el agrupamiento de los mismos y la nula accesibilidad a los diversos servicios de salud<sup>8</sup>.

Otros factores de riesgo son <sup>8</sup>:

- a. Mayor resistencia a la enfermedad en individuos con sangre del grupo O y mayor susceptibilidad en los del grupo AB.
- b. Mayor susceptibilidad a la enfermedad en: *alcohólicos (riesgo de 10 veces mayor)*, infectados con HIV, diabéticos, enfermos con linfoma y otras enfermedades crónicas, gastrectomizados, enfermos con cáncer, individuos con silicosis y aquellos que reciben terapia inmunosupresora.
- c. Se sabe que el personal hospitalario, principalmente médicos y enfermeras, tienen un riesgo de 15% para la adquisición de la enfermedad, por el contacto frecuente con individuos enfermos.

d. En la niñez, adultos hombres de edad media y en las mujeres adultas jóvenes, se presenta mayor mortalidad<sup>8</sup>.

La morbilidad se ha incrementado en la población de 25-45 años por el abuso de drogas e infecciones simultáneas, principalmente por el virus de HIV (virus de inmunodeficiencia humana)<sup>8</sup>.

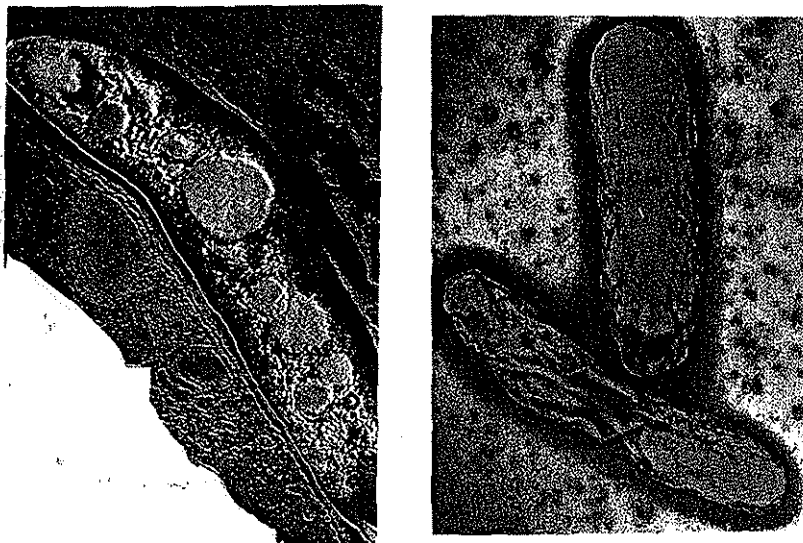


## CARACTERÍSTICAS DE LA BACTERIA:

### GENERALIDADES

Como ya habíamos mencionado son los bacilos *Mycobacterium tuberculosis*, ocasionalmente *Mycobacterium bovis*, el bacilo de *Calmette Guerin* atenuado<sup>6 7</sup> y en una pequeña proporción de casos las micobacterias atípicas como *M. Fortuitum* y *M. avium*<sup>1 28</sup>, las que ocasionan tuberculosis humana.

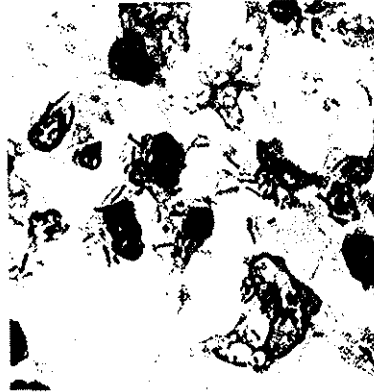
Es una bacteria que pertenece a la familia de *Mycobacteriaceas*, orden *actynomycetae*.; es ácida, mide 1-4  $\mu$  de longitud y 0.2 a 0.5 $\mu$  de ancho; tiene forma de bastón delgado, recto o ligeramente curvo, extremos redondeados (fig. 3). Es una bacteria no esporulada, aeróbica, de lento crecimiento, inmóvil<sup>29</sup> y que puede permanecer en los tejidos en forma latente (intracelular facultativa), dando así lugar a los cuadros de reactivación de la enfermedad. Su característica ácido alcohol resistencia está dada por la membrana lipídica que la recubre.



**Fig. 3** Microscopía electrónica; aspecto de *M. tuberculosis*.

Fotografías de la Revista "Muy Interesante"

Se tiñe levemente con el Gram y con Ziehl Neelsen se tiñe en rojo brillante (ácido alcohol resistencia característica) ( fig. 4).



**Fig. 4 Aspecto de *M. tuberculosis*, se observa su característica ácido alcohol resistencia .**

**Tinción de Ziehl Neelsen/ Inmersión.**

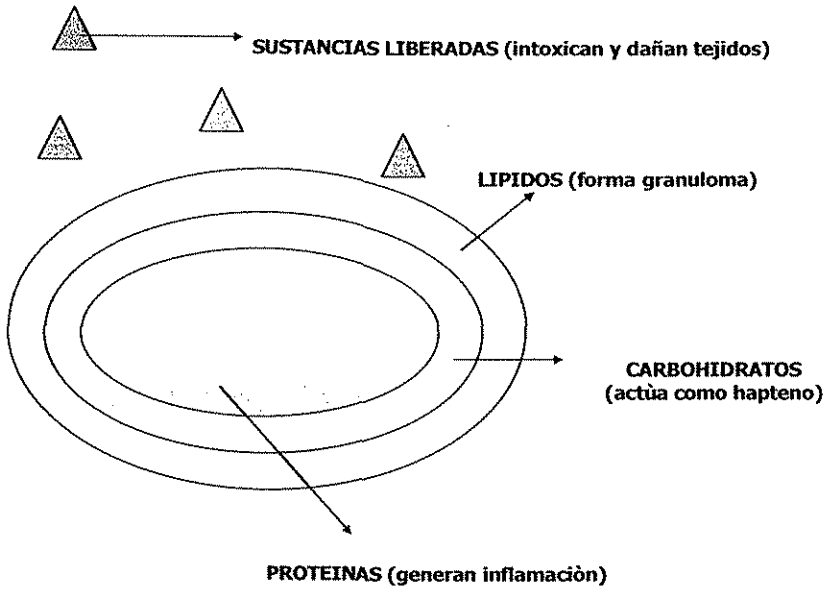
**Fotografía de Tuberculosis pulmonar, tomada de Internet.**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## **MECANISMOS DE DAÑO TISULAR**

Se sabe que la bacteria no produce endo ni exotoxinas<sup>30</sup>, ocasiona daño a los tejidos por su composición (fig. 5) que consiste en:

1. Materiales lipídicos, insolubles en las células del huésped, las cuales generan hipersensibilidad. La fracción lipídica de la bacteria es la que le da su ácido resistencia y forma el tubérculo, el cual está constituido por células epiteloideas y gigantes, primero porque la insolubilidad es un estímulo inicial para la reacción fagocítico-mononuclear y porque contiene fosfátido que es el lípido más reactivo<sup>31</sup>. Se piensa que también los ácidos libres de alta densidad son otros lípidos irritantes que ocasionan caseosis y calcificación en los tuberculos. En resumen la fracción lipídica es la que da resistencia a la bacteria y actúa como antígeno.
2. Las proteínas de la bacteria producen una respuesta inflamatoria en el organismo normal y ocasionan daño tisular, el cual va acompañado de sintomatología constitucional; si hay exceso de proteínas se genera una inflamación trivial, pues el organismo no es capaz de reconocer altas cargas antigénicas. Adicionalmente las proteínas bacterianas como la tuberculina son antigénicas (un ejemplo es la reacción de tipo hipersensibilidad cuando se aplica la tuberculina)<sup>32</sup>. Otras proteínas antigénicas encontradas son la micoltransferasa (Ag85B) y el ESAT-6, que activan a una subpoblación de linfocitos T CD4.<sup>33</sup>
3. Los carbohidratos podrían ser la fracción bacteriana que genera anafilaxia, actuando como haptenos.
4. Asimismo pueden generar sustancias que al dañar y desintegrar tejidos ocasionan intoxicación en el huésped.



**Fig. 5 Composición general del bacilo tuberculoso.**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **MECANISMOS DE EVASIÓN BACTERIANOS**

Se llaman mecanismos de evasión a las respuestas bacterianas que permiten su estancia dentro de un organismo, para lograr su replicación y supervivencia, algunos de ellos son: Dentro del macrófago, en los fagosomas (vesículas que engloban a las bacterias) permiten que las bacterias permanezcan ocultas a los linfocitos T citotóxicos y a las inmunoglobulinas.

Son capaces de inhibir la fusión del fagosoma con vesículas lisosomales impidiendo que viertan su contenido (eliminan por tanto el ambiente hostil que esto representa)<sup>34</sup>, además de prevenir la acidificación al interior de los fagosomas (inhibiendo la activación de proteasas).

También secretan catalasa que forma agua a partir del peróxido de hidrógeno, eliminan el sustrato para que la mieloperoxidasa forme compuestos tóxicos (como el hipoclorito).

Otro mecanismo es la liberación de lipoarabinomana que interfiere la capacidad de respuesta de los macrófagos a los estímulos del INF-gamma. Finalmente la propia bacteria es capaz de destruir al macrófago al replicarse dentro del mismo, hasta que la célula muere.

Asimismo debe considerarse que las diferencias en los tipos bacterianos le dan la virulencia al germen.

## **TUBERCULOSIS INFECCION :**

La tuberculosis es una enfermedad de adquisición principalmente por vía aérea, que induce principalmente inmunidad celular y que de acuerdo a la infectividad de la bacteria ocasiona en el 90% de casos una infección subclínica, en el 10 % restante causa una enfermedad temprana o tuberculosis primaria (antes de 5 años posterior a la infección, 5%) y una enfermedad tardía o tuberculosis secundaria (después de 5 años de la infección, otro 5%)<sup>8 35</sup>.

Los factores que favorecen su desarrollo son principalmente :

1. Virulencia del bacilo- dada por su invasividad y habilidad para la evasión de la respuesta inmune del hospedero. Se calcula que deben inhalarse entre 5 y 200 bacilos para que se presente la infección.
2. Respuesta del hospedero- que depende primordialmente de la constitución genética del individuo (se sabe que los negros son menos aptos para destruir a los bacilos)<sup>8</sup> y las condiciones socioeconómicas del sujeto<sup>36</sup>.

La bacteria penetra por mucosas (siendo la principal la mucosa respiratoria); se ha observado que en un paciente con frotis positivo, sin recibir tratamiento, puede llegar a infectar entre 10 y 20 personas, en un lapso de 2 años.<sup>37</sup> Esto se debe a que la infección se adquiere básicamente por la inhalación de pequeñas gotas de 1-5 micras (gotas de Fludge frecuentemente expelidas al hablar), que quedan suspendidas en el aire, siendo vehículos efectivos para la propagación del bacilo.

Una vez que el bacilo ingresa, se inician las etapas de la tuberculosis pulmonar, que son:

I Estasis bacilar (no hay crecimiento bacilar) y el bacilo es destruido o inhibido por el macrófago que lo ingiere y el bacilo no destruido crece y destruye al macrófago.

II Simbiótico, el bacilo crece logarítmicamente en el macrófago inmaduro, dentro de un tubérculo y posteriormente entra al torrente sanguíneo y los linfáticos, formando un foco inicial (fig. 6), casi siempre pulmonar (nódulo de Ghon, que al involucrar adenopatías hiliares da el nódulo de Ranke)<sup>38</sup>

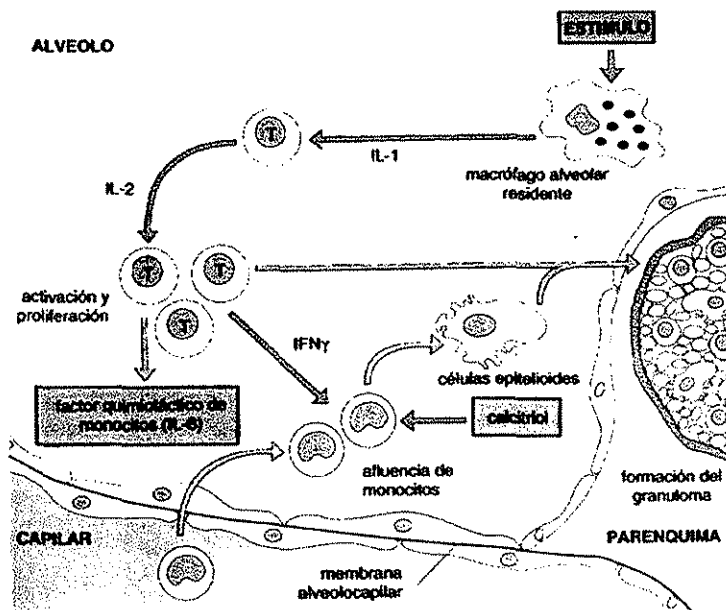


Fig. 6 Formación del granuloma.

Tras estimarse los macrófagos pulmonares, se activan y proliferan las células T; son atraídos los monocitos por IL-8 y bajo activación por IFN  $\gamma$  + calcitriol se diferencian en células epitelioides, que junto con las células T, forman granulomas

Esquema tomado del Libro "Inmunología Clínica"<sup>39</sup>

III Necrosis caseosa inicial, en donde el número de bacilos viables es estable porque su crecimiento se inhibe por la respuesta a antígenos de tipo tuberculina del bacilo, de modo que el foco puede permanecer delimitado e incluso llegar a calcificarse. Puede haber una respuesta de tipo hipersensibilidad con daño secundario al huésped o bien diseminarse por toda la economía, ocasionando la enfermedad.

Se desconoce la causa de reactivación de las lesiones, pero se piensa que el trauma local o la inflamación inespecífica estimulan al microorganismo y las manifestaciones cutáneas de la enfermedad una vez que el bacilo se ha reactivado pueden depender del balance

entre la virulencia del organismo y la inmunocompetencia del huésped, específicamente se han observado variaciones de CD4/CD8 en varios tipos de tuberculosis cutánea como la escrofulodermia, en que la relación se encuentra disminuida.<sup>40</sup>

Se desconocen también los mecanismos que generan vasculitis en algunos tipos de tuberculosis, se ha postulado que la deposición de complejos inmunes en los vasos es la causa,<sup>41</sup> <sup>42</sup> se encuentran además complejos circulantes<sup>43</sup> que sugieren que, los mecanismos inmunes por células B, estén implicados en dicha vasculitis, no así en la formación de granulomas.

Puede coexistir infección pulmonar y cutánea por tuberculosis,<sup>44</sup> <sup>45</sup> en estos casos es útil el tratamiento con tuberculostáticos cuando se observan escasas y pequeñas lesiones en piel; cuando existe un cuadro cutáneo activo generalizado, como en la tuberculosis miliar aguda, deben usarse esquemas completos de tratamiento.<sup>46</sup>

La tuberculosis puede llegar a complicarse con neoplasias como el carcinoma epidermoide, plasmocitoma y procesos como la enfermedad de Hodkin y otros linfomas. Asimismo se ha observado en casos fulminantes con control terapéutico previo, asociación con linfoma<sup>47</sup>.



## **TUBERCULOSIS CUTÁNEA :**

La piel al igual que el resto del organismo es susceptible de ser afectada por *M. tuberculosis*, dando lugar a diversos cuadros dermatológicos, puede afectar a personas de cualquier edad, incluso antes del año de edad.<sup>48</sup>

En México en los últimos 15 años, al igual que en otros países como Hong Kong (en donde la tuberculosis verdadera más común es el lupus vulgar)<sup>49</sup>, el eritema indurado de Bazin es el tipo de tuberculosis más frecuentemente observada, afecta predominantemente a adultos jóvenes, del sexo femenino<sup>50</sup>, las otras variedades de tuberculosis cutánea que le siguen en frecuencia a la tuberculosis nodular profunda son: tuberculosis micronodular de la cara y tuberculosis verrugosa<sup>3 23</sup>.

## **CLASIFICACION DE TUBERCULOSIS CUTÁNEA**

La clasificación de la tuberculosis cutánea aceptada internacionalmente es la de Byet y colaboradores, basada en las vías de infección<sup>51</sup>, que pueden ser exógena (del propio enfermo o autógena y de fuente ajena al paciente o heterógena) y endógena cuando proviene de foco primitivos extracutáneos preexistentes. Se han hecho modificaciones a esa clasificación, como la presentada por Savin y Wilkinson o la de Ullah & Fritsch y que se presenta en la tabla siguiente:

**Clasificación de tuberculosis cutáneas (modificada de Byet)<sup>52</sup>**

<b>Tuberculosis de inoculación (exógena)</b>	Chancro tuberculosis Tuberculosis verrugosa Lupus vulgar (algunos casos)
<b>Tuberculosis secundaria (endógena)</b>	Por contiguidad: escrofuloderma Por autoinoculación: tuberculosis orificial
<b>Tuberculosis hematogena</b>	Tuberculosis miliar aguda Lupus vulgar (algunos casos) Tuberculosis gomosa
<b>Tuberculosis eruptiva (tuberculides)</b>	Liquen escrofulosorum Tuberculides papulares o papulonecróticas

En México se utiliza la clasificación de Latapi<sup>21</sup>, Escalona<sup>53</sup> y Estrada<sup>54</sup> que considera dos grupos básicos:

- I. Formas fijas (habitadas, localizadas, típicas, crónicas, progresivas); resultan de la colonización y reproducción local de *M. tuberculosis*, en individuos sin infección previa o previamente infectados, con reactividad normal al bacilo y sus productos antigénicos; en ellas se encuentra al bacilo en las lesiones y la respuesta al PPD es normérgica. En éste grupo se encuentran el complejo primario, la tuberculosis colicuativa o escrofuloderma, luposa o lupus vulgar, tuberculosis verrugosa, tuberculosis ulcerosa, la miliar aguda y otras formas fijas.
- II. Formas diseminadas (hematógenas o tuberculides), en gran parte de la literatura se menciona la controversia sobre su origen fímico, otros las consideran como lesiones debidas a la respuesta hiperérgica del individuo al bacilo, por lo cual no es posible encontrar a *M. tuberculosis* en las lesiones, pero la respuesta a sus productos (antígenos) es muy intensa, pese a que el bacilo se encuentre en otro sitio (pulmón, riñón, etc.). Suelen evolucionar por brotes recidivantes y suelen ser bilaterales; en ellas, la respuesta al PPD es hiperérgica y no hay bacilos en las lesiones. En éste grupo se encuentran la tuberculosis nodular profunda<sup>55</sup>, la nódulonecrótica, la tuberculosis liquenoide y la micronodular de la cara.

## **ASPECTOS CLINICOS**<sup>56 57 58</sup>

### **I. FORMAS FIJAS O HABITADAS**

I a . Chancro cutáneo de primoinfección (complejo cutáneo tuberculoso) – se presenta en sujetos sin antecedentes fímicos, en quienes el bacilo penetra al organismo por primera vez a través de una solución de contigüidad, 15 días más tarde se forma un nódulo o vesiculopústula de contenido turbio, el cual se ulcera. A las 2 semanas de la presencia del chancro, se presenta una adenopatía satélite que puede abrirse y dar salida a secreción purulenta; posteriormente la úlcera es sustituida por tejido verrugoso.

I b. Colicuativa (tuberculosis gomosa, escrófulas, escrofuloderma) - predomina en niños y adultos jóvenes. Es ocasionada por la reinfección por contigüidad o linfática (endógena), de focos tuberculosos linfáticos, óseos o ganglionares. Se distribuye uní o bilateralmente en el cuello (fig. 7), región submaxilar o infraclavicular, axilas y regiones inguinales. La lesión elemental es el nódulo que puede ser único o múltiple y que evoluciona en 4 etapas: Induración, reblandecimiento, fistulización (goma) y cicatrización.



**Fig. 7 Tuberculosis colicuativa.  
(Escrofuloderma)**

Foto cortesía de las Dras. Padilla y Cancela.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

I c. Luposa (lupus vulgar, lupus de Willan, lupus tuberculoso) – relativamente frecuente en mujeres (2:1), durante la infancia y la juventud (<20años). Su origen es endógeno con propagación por contigüidad, linfática y hematógena, siendo ocasional la infección exógena. Localización en la cara (fig. 8), con distribución en mejillas y nariz (85%), labio superior, mentón y pabellones auriculares(13%). La lesión elemental es el lupoma o nódulo, de aspecto traslúcido y que se evidencia con la vitropresión.



**Fig. 8 Tuberculosis luposa.**

I d. Verrugosa (tuberculosis verrucosa cutis, lupus escleroso papilomatoso) – predomina en varones adultos. Es una tuberculosis de reinfección exógena por autoinoculación o por inoculación externa. Se localiza a dorso de manos (fig. 9) y antebrazos y piernas y pies. La lesión elemental es el nódulo vegetante, hiperqueratósico, grisáceo, borde infiltrado y delimitado por una zona inflamatoria violácea.

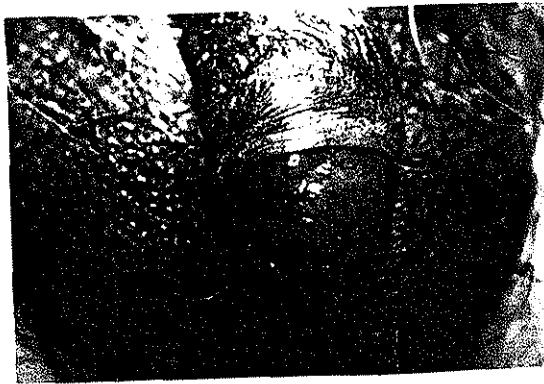


**Fig. 9 Tuberculosis verrugosa.**

Foto cortesía de la Dra. Padilla

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

I e. Ulcerosa (úlceras tuberculosa, tuberculosis orificial, tuberculosis cutis orificialis) – localización periorificial, más frecuente lingual (borde o punta). Suele coexistir con tuberculosis viscerales avanzadas. Clínicamente (fig. 10) se observa como una úlcera policíclica, de fondo granuloso amarillento (granulaciones de Trélat), purulento- necrótica, bordes violáceos, irregulares, despegados; dolorosa y de evolución rápida. Habitualmente el individuo es PPD negativo por anergia. Se considera que la tuberculosis cutis orificial representa un síntoma avanzado de enfermedad interna, con un pronóstico desfavorable.<sup>59</sup>



**Fig. 10 Tuberculosis ulcerosa.**

I f. Miliar cutánea aguda – se le considera como la forma más grave de la enfermedad, pues implica un cuadro agudo diseminado por vía hematogena, que puede involucrar incluso meninges, se acompaña de fiebre y ataque al estado general. Constituida por micronódulos color rojo-azuloso, que presentan en su parte central una pequeña vesícula o una depresión cubierta por una costra, que evolucionan hacia la ulceración y la cicatrización varioliforme.

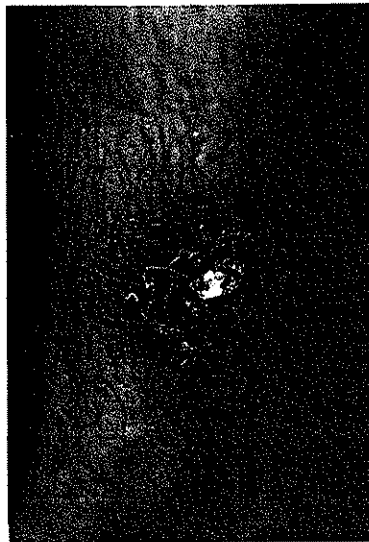
I g. Otras formas fijas – incluye la tuberculosis fungosa y vegetante ( que a su vez incluye las formas frambesiforme, linfangítica, elefantásica perianal y perivulvar), de Riehl y sarcomatoide.

FORMAS DISEMINADAS

II a. Tuberculosis nodular profunda (eritema indurado de Bazin (fig.11), eritema indurado ulcerado tipo Hutchinson (fig 12), tuberculosis indurativa)– se observa predominantemente en mujeres jóvenes (15-30 años), que permanecen en sitios húmedos y fríos. Localizada a las piernas principalmente en los 2/3 inferiores en sus caras posteriores, dorso de los pies, rodillas y muslos. Está constituida por nódulos profundos, de 1-3 cm, dolorosos a la palpación, la piel que los cubre está rojo-violácea, brillante, con escama fina y temperatura disminuida.



**Fig. 11 Tuberculosis nodular profunda.  
(Eritema indurado de Bazin)**



**Fig. 12 Tuberculosis nodular ulcerada.  
(Tipo Hutchinson)**

II b. Nódulo necrótica (tuberculides nódulonecróticas, tuberculides pápulonecróticas, tuberculide papular y nodular) – se presenta en los niños y jóvenes de ambos sexos, está asociada a problemas de insuficiencia vascular periférica. Se considera de infección

endógena. Se localiza en las caras de extensión de las extremidades superiores e inferiores y ocasionalmente en la cara, piel cabelluda, palmas, plantas y glánde. La lesión elemental es el nódulo, pequeño, rosa-rojo que evoluciona a vesiculopústula rojoviolácea, de contenido turbio que al secarse deja una escara que cubre una úlcera pequeña y profunda; a las 2-3 semanas se desprende la escara y deja una cicatriz varioliforme rodeada de un collarite escamoso.

II c. Tuberculosis liquenoide – Es una de las formas menos frecuentes de tuberculosis, semeja a el liquen plano o al liquen nítido. Se presenta en niños y jóvenes; se localiza al tronco, el dorso, le siguen las extremidades y la cara, es simétrica. Morfológicamente está constituida por nódulos pequeños, foliculares, de 1-2 mm redondeados, planos o coniformes, del color de la piel, en cuyo centro hay un vello cortado al ras o un tapón córneo; confluyen para formar placas hasta de 5 cm.

II c. Tuberculosis micronodular de la cara (tuberculide rosaceiforme) – afecta preferentemente a la mujer, entre 15-30 años; se localiza a cara en: frente, nariz, mejillas y párpados. Consiste en nódulos de 1-2 mm, eritematosos, aislados o confluentes (fig. 13). Se asocia en algunos casos a fotosensibilidad y conjuntivitis.



**Fig. 13 Tuberculosis micronodular de la cara**

## **DIAGNOSTICO DIFERENCIAL EN LAS TUBERCULOSIS CUTANEAS:**

Debe realizarse con diversos padecimientos, entre otros con esporotricosis, granuloma de las piscinas, linfogranuloma venereo, granúloma de cuerpo extraño, enfermedad por arañazo de gato y chancro sifilítico<sup>27</sup>. En la siguiente tabla, tomada del libro de Saul<sup>94</sup>, se resumen algunos diagnósticos diferenciales de tuberculosis cutánea.

<b>TIPO DE TUBERCULOSIS</b>	<b>DIAGNOSTICO DIFERENCIAL</b>
Tuberculosis colicuvativa	Coccidioidomicosis, osteomielitis, actinomicosis, micetoma, enfermedad de Hodgkin, brucelosis, esporotricosis.
Tuberculosis verrugosa	Cromomicosis, linfaestasis verrugosa, verrugas virales, esporotricosis
Tuberculosis luposa	Esporotricosis, leishmaniasis, carcinomas, paracoccidioidomicosis
Tuberculosis nodular profunda	Eritema nudoso, vasculitis nodular
Tuberculosis nódulo necrótica	Acné, foliculitis, siflides
Tuberculosis micronodular	Frinoderma, queratosis pilar

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



## **RESPUESTA INMUNE EN TUBERCULOSIS**

En la infección por tuberculosis coexiste una respuesta inmune celular protectora y una respuesta de hipersensibilidad tipo IV (fig.14).

Una vez que el bacilo ha penetrado al organismo, generalmente por inhalación, evade los mecanismos de defensa inespecíficos implantándose en un sitio primario en donde se multiplican sin resistencia aparente del hospedero; posteriormente son fagocitados por los macrófagos y destruidos (por activación de citocinas de linfocitos T cooperadores , principalmente interferón gama), o bien pueden permanecer viables y seguir multiplicandose, de modo que al llegar el macrófago al ganglio linfático, se disemina el bacilo por vía linfática y sanguínea a cualquier otro órgano, en donde puede ser destruido (junto con las células infectadas mediante linfocitos T citotóxicos CD8) o persistir en forma latente durante años en forma simbiótica dentro de las células monocíticas, pero con gran proliferación bacilar y gran reclutamiento de macrófagos en el sitio de la lesión (fenómeno probablemente favorecido por las bajas concentraciones de oxígeno en estos sitio).

Los linfocitos T CD4 Th1, expresan una alta densidad de CD44 y baja densidad de CD45RB, y son activados por células NK, que a su vez se activan con la micobacteria. Las células NK producen IFN gamma 12, y los macrófagos intercleucina 12 (IL12) y juntos favorecen la diferenciación y predominio de la subpoblación linfocitaria Th1, que producen básicamente interferón gama IL-2 y factor de necrosis tumoral Beta (TNF beta) o linfo toxina.

Las células Th2 producen principalmente IL-3, IL-4,IL-5,IL-6,IL-9,IL-9,Il-10 e IL-13, de modo que inducen una respuesta inmune mediada por anticuerpos.

Así las células Th1 producen interferón gama junto con los linfocitos T CD8, activando potentemente a los macrófagos, tornándolo altamente eficiente en la destrucción de los bacilos alojados en su interior, gracias al incremento en los mecanismos intracelulares de muerte mediados por los radicales reactivos de oxígeno y óxido nítrico. Otros cambios en el macrófago, amplifican ésta respuesta inmune, como el incremento en la expresión de moléculas de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y el incremento en

el número de receptores para TNF-alfa, de modo que hay presentación antigénica a mayor número de linfocitos T cooperadores y una mejor respuesta a TNF- alfa. No obstante esta activación constante consume mucha energía y produce daño a los tejidos, probablemente por liberación de moléculas tóxicas, radicales de oxígeno, óxido nítrico y proteasas, dañando a las células del hospedero.

Por otra parte los linfocitos T con cadenas gamma-delta (5% del total de la población linfocitaria, distribuidos en epitelios de útero, vagina, intestino y piel principalmente) reconocen moléculas que no son clásicas, además de que reconocen proteínas de choque térmico y antígenos de micobacterias. A su vez tienen 2 subpoblaciones, una de ellas produce IFN- gamma y otra IL-4, de modo que permiten que haya una respuesta inmune bipolar.

Otros son los linfocitos con cadenas alfa-beta, que constituyen el 95% de los linfocitos T y están ampliamente distribuidos en el organismo. Hay un tipo de linfocitos T alfa-beta CD4-CD8-. Se ha observado que se encuentran principalmente en individuos PPD positivos, y muestran proliferación con ácido micólico, de modo que son capaces de lisar a células que presenten el compuesto en CD1b, representan por lo tanto protección adicional ante las micobacterias.

Si la proliferación de las bacterias llega a un punto crítico, se reinicia una respuesta inmune celular, con gran actividad de los macrófagos, que producen IL-12, que a su vez activa a subpoblaciones de linfocitos CD4 Th1, que liberan IFN gamma, TNF- beta, IL-3 y factor estimulante de monocitos y macrófagos (GM-CSF), incrementando los mecanismos de muerte intracelular. Pero si la respuesta no es eficaz, existe un estímulo antigénico persistente y esas citocinas promueven la diferenciación de los macrófagos a células epiteloides (que liberan gran cantidad de TNF-alfa), algunas de las cuales se fusionarán, dando lugar a las células gigantes multinucleadas y a la formación del granuloma; además se incrementan los macrófagos por acción del GM-CSF e IL-3 (pues tienen efecto hematopoyético en la médula ósea). Si bien los granulomas encapsulan a las bacterias, también las aíslan del sistema inmune y previene el daño al tejido por parte de los macrófagos ( que al quedar en el centro del granuloma mueren dando lugar a necrosis

caseosa). Así desde el punto de vista patológico se forman los granulomas, como respuesta a una intensa reacción inmune celular.

Sin embargo los linfocitos T cooperadores CD4 Th2 pueden inhibir la activación de macrófagos mediante citocinas como el factor beta transformante del crecimiento (TGF-beta), IL-4, IL-10 e IL-13, regulando así su actividad.

La inmunidad adquirida es por lo general adecuada, de modo que el individuo permanece asintomático y las lesiones curan, pero un 5-10% de los individuos desarrollarán la enfermedad.

Esta susceptibilidad-resistencia del individuo a la enfermedad, parece ser producto de moléculas de complejo mayor de histocompatibilidad (CMH, producto de genes estructurales del HLA, localizado en el brazo corto del cromosoma 6), de los que la clase I, cadena alfa, tiene 3 dominios: alfa-3 interacciona con CD8 del linfocito T citotóxico) y dominios alfa-1 y alfa-2(estructurales). Los clase II codifica para moléculas de expresión en células presentadoras de antígeno, principalmente macrófagos, células interdigitantes, células dendríticas y linfocitos B. Las clase III no participan en presentación antigénica; sus productos son TNF alfa, TNF beta, C4A, C4B, HSP-70 y 21-HO.

De modo que variaciones alélicas pueden condicionar susceptibilidad o mayor riesgo de contraer la enfermedad, o bien de dar resistencia o protección. El análisis de antígenos clase II, indican que DR2,DR3, DQ1 y DR5 determinan la susceptibilidad genética a la tuberculosis y en la población mexicana es DR2 el que confiere dicha susceptibilidad (pacientes anérgicos que posiblemente favorezcan una supresión de la respuesta específica a tuberculosis) y DR11 resistencia<sup>35 60</sup>

Así se encuentran cuadros bipolares, en donde en un extremo hay pacientes con buena respuesta inmune y en el otro los hiporreactores o anérgicos, cuya respuesta está abatida.<sup>61</sup>

En algunas investigaciones se han observado infiltrados dérmicos de mastocitos cuando hay formación de cicatriz, y escasos mastocitos cuando no hay cicatrización, lo cual sugiere que éstas células juegan un papel en el proceso de cicatrización de algunas tuberculosis cutáneas.<sup>62</sup>

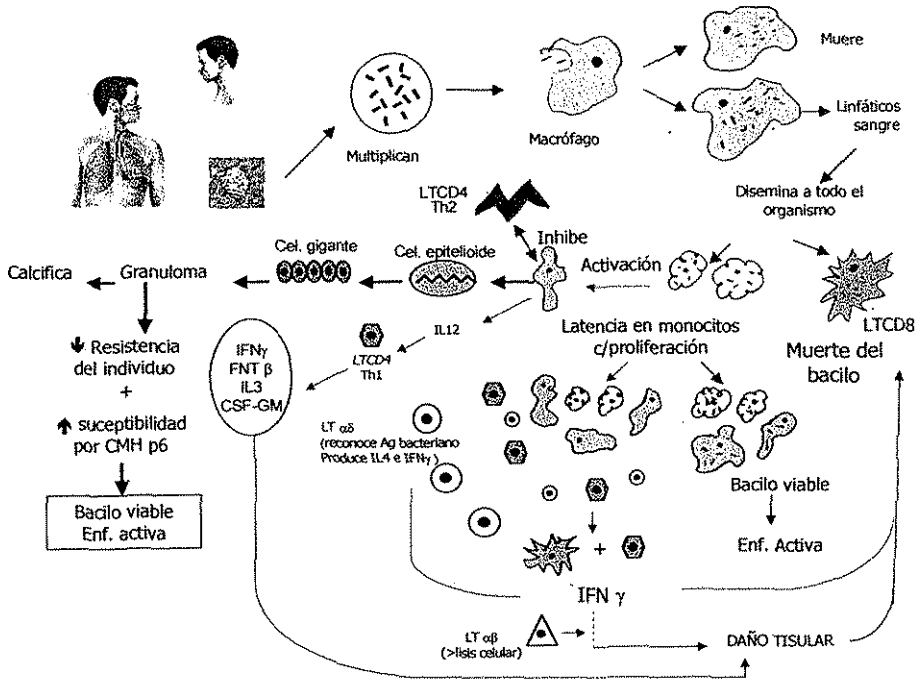


Fig. 14 Respuesta inmune en tuberculosis

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## **BCG:**

La vacuna BCG fue introducida en los años 70's; la vacuna esta formada por bacilos atenuados de Calmette Guerin, de modo que puede ocasionar desde reacciones locales como úlceras superficiales y costra, linfadenitis e incluso reacciones diseminadas como la BCG-itis (asociada a inmunodeficiencia severa)<sup>63</sup> y otras complicaciones como eritema nudoso, iritis, lupus vulgar, osteomielitis, liquen escrofuloso, tuberculides de aspecto papular y liquen nítido.

## **TUBERCULINA**

### **REACCION DE MANTOUX - TUBERCULINA:**

Son emulsiones de bacilos muertos, proteínas del cultivo original, es decir son tubérculo proteínas purificadas mediante el método de Seibert, de la tuberculina de Koch a diluciones de 1/10 000, 1/1000 y 1/100.

La reacción se hace positiva a las 3-8 semanas después de la primo infección.

Se realiza una inyección intradérmica de 1/10 de cm<sup>3</sup> (dosis utilizada es de 10<sup>6</sup> = 1/1.000 ó 0.0002 mg de PPD) su lectura se realiza en los casos de las diluciones a las 24 y 48 horas, en las dosis actuales de PPD se lee a las 72 horas, con la siguiente interpretación:

Negativa – el individuo no presenta o ha presentado infección y carece de inmunidad adquirida.

Positiva – infección activa o curada e inmunidad adquirida y alergia cutánea, ya que inmunológicamente genera una reacción por linfocitos T<sup>8</sup>. La positividad se mide en centímetros, y se reporta en cruces (+), con la siguiente interpretación:

De 5-10 mm + = infiltración y eritema (fig. 15)

De 11-15 mm ++ = pápula, eritema e infiltración

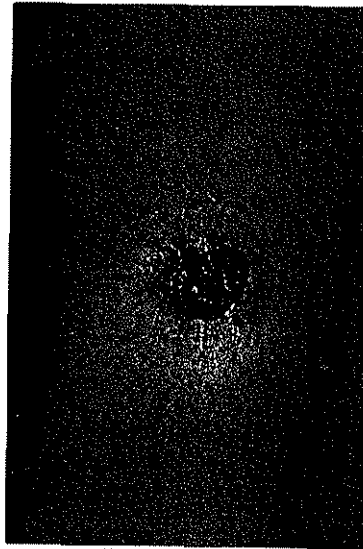
De 16- 20 mm +++ = pápula, con mayor infiltración y eritema

Mayor 20 mm ++++ = necrosis (figs. 16 y 17)

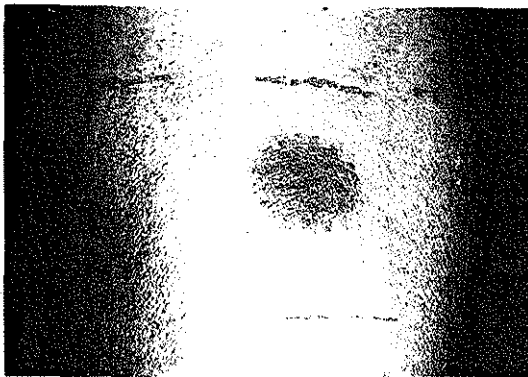
Clínicamente se observa inicialmente una fase de eritema, seguida de la aparición de una pápula pardusca o una úlcera irregular de borde mal limitado y base granular y hemorrágica que se convierte en una induración de borde elevado y costra fina en su superficie o bien nódulos que a la diascopía presentan aspecto de "jalea de manzana". Ocasionalmente se encuentran nódulos lupoides alrededor de la úlcera.<sup>64</sup>



**Fig. 16 PPD hiperérgico.**  
Foto cortesía Dra. Mora



**Fig. 17 PPD hiperérgico- necrosis.**



**Fig. 15 PPD normérgico**

Histológicamente se observa inflamación neutrofílica aguda con necrosis central y numerosos bacilos, posteriormente entre la 3ª y 6ª semanas se modifica formando infiltrado granulomatoso con caseificación.

En México se utilizan derivados proteicos purificados de producción nacional y en EUA (RT23 y 5TUPPD respectivamente), con sensibilidades de 87% y especificidades de hasta 92%<sup>65</sup>. Dentro de sus inconvenientes se encuentra el que hasta 90% de la población puede reaccionar a la tuberculina, por lo que ya no es una herramienta diagnóstica de enfermedad, sino que solo indica antecedente de contacto con la bacteria<sup>66</sup>; se calcula la presencia de falsos negativos hasta en el 25% de la población, lo cual se incrementa hasta 50% en casos de enfermos críticos con tuberculosis diseminada<sup>67</sup>; además la tuberculina puede dar reacción cruzada con otras micobacterias.

## **OTRAS CUTI-REACCIONES**

Cutireacción de Pirquet; se realiza en la cara anterior del antebrazo, primero se escarifica la zona, posteriormente se aplica 1 gota de tuberculina y a 5 cm de ésta se aplica 1 gota de caldo glicerinado; se lee a las 48 horas y se interpreta positiva (+), si existe inflamación en el sitio de aplicación de tuberculina, si hay inflamación en el sitio de tuberculina y de glicerolado es dudoso el resultado.

Clínicamente se observa una mácula de 2 mm que se hace con el tiempo pápula y después papulo-eritema y finalmente vesícula (los últimos 2 estadios indican hiperergia)<sup>51</sup>.

## DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS

- 1) Se debe considerar que ante todo, es básico contar con una **historia clínica**, haciendo hincapié en contactos con enfermos (Combe), además de tener un cuadro clínico compatible o sugestivo de la enfermedad; en la forma sistémica es frecuente encontrar fiebre de origen desconocido<sup>12 51 68. 69</sup>.
- 2) **Radiografías y otros estudios de imagen (TAC, REMI)**, principalmente torácicas, buscando un foco pulmonar activo<sup>11</sup>.
- 3) **Biometría hemática (BH)**. En la biometría hemática es frecuente tener datos inespecíficos de infección crónica como anemia, leucocitosis con eosinofilia y linfopenia relativas, así como velocidad de sedimentación globular aumentada.<sup>70 71</sup>
- 4) **Exámen cutáneo con tuberculina, intradermorreacción o PPD** que consiste en la inoculación de 2U de antígeno tuberculosos en 1cc de líquido, con lectura de la reacción a las 48 hr, considerandose positiva si el diámetro de la pápula excede los 5 mm.<sup>72</sup>
- 5) **Baciloscopías** – frotis de las secreciones con tinción Ziehl-Neelsen para bacilos ácido alcohol resistentes (**BAAR**), sirve para la observación directa del bacilo y se realiza: en: esputo, orina y ocasionalmente en otras secreciones corporales como líquido gástrico (principalmente en pacientes pediátricos). Detecta solo la mitad de los casos en las mejores condiciones.
- 6) Para corroborar la naturaleza de las lesiones clínicamente sospechosas, sobre todo en la piel, se realiza **biopsia** (fig. 18) con tinciones de hematoxilina-eosina (HE), Ziehl Neelsen, y/o Fite Faraco. En ella suelen observarse granulomas tuberculosos que consisten en células de Langhans, con necrosis central, rodeadas de histiocitos epiteloideos, linfocitos y monocitos. Cuando se trata de un granuloma tuberculoide se ve una imagen similar, sin necrosis central<sup>18 32</sup>.

En un artículo reciente se sugiere la presencia de mastocitos como células específicas en el diagnóstico de tuberculosis cutánea<sup>64</sup>.

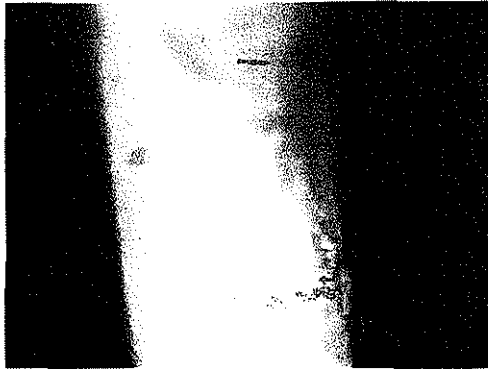




**Fig. 18 Microscopía óptica inmersión. Imagen tuberculosa típica.**  
Se observa la característica célula gigante tipo Langhans, con centro necrótico, rodeada de histiocitos, células epitelioides, linfocitos y monocitos.  
Foto cortesía Dra. Rgz. Peñaloza

7) **Cultivos.** se realizan de secreciones y/o de tejidos. El medio más usado es el Lowenstein Jensen (fig. 19), con un tiempo prolongado de incubación en una atmósfera de bióxido de carbono<sup>73</sup>. Su mayor inconveniente es el tiempo que tarda el desarrollo de las colonias, oscilando entre 4-8 semanas. No obstante su sensibilidad es de 66% y especificidad de 100% en esputo<sup>74</sup>; en el caso de la piel si bien no se ha calculado, la sensibilidad es más baja<sup>75</sup>. Recientemente se han desarrollado otros medios de cultivo que intentan disminuir los falsos negativos y son:

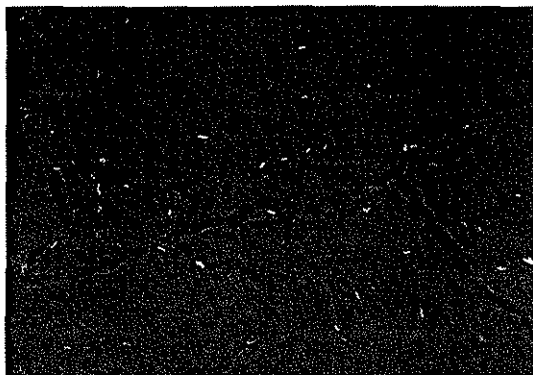
- a. Bactec
- b. Middle brook 7H10 y 7H11 cuya eficacia se estima en 82.2%
- c. ESP sistema de cultivo II. Mide cambios de presión dados por la relación producción-consumo de gas, resultante del crecimiento bacteriano, se emplea para productos sanguíneos y se considera que tiene una eficacia de 90.4% en los sedimentos.<sup>76</sup>



**Fig. 19 Cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* en medio Lowenstein Jensen.**  
Colonias amarillo-blanquecinas, cremosas.

- 8) **ELISA** (enzyme linked immunoabsorbent assay) método cualitativo y/o cuantitativo (indirecto o directo respectivamente), que determina la presencia de anticuerpos en el líquido sospechoso mediante la reacción de antígenos específicos que se encuentran absorbidos en un soporte<sup>77</sup> y que la magnitud de la interacción antígeno-anticuerpo se manifiesta mediante una reacción colorida. Puede desarrollarse con antígenos de *Mycobacterium tuberculosis*, antígenos de BCG<sup>78</sup>, socinato, PPD, antígenos glicolípidos y antígenos 5 y 6. En general su sensibilidad se estima entre 45-95%<sup>77 79</sup> y su especificidad de 80% y hasta 100%. El antígeno más empleado recientemente es el Ag 60 que cuenta con una sensibilidad y especificidad cercana al 80% y con posibilidad de falsos positivos de 31.68% en tuberculosis calcificada y 11.6% en individuos sanos<sup>80</sup>.
- 9) Otros antígenos desarrollados, para medición con **espectometría**, son el Ag 38kda y el Ag kp 90, con una sensibilidad y especificidad promedio del 60% y posibilidad de falsos positivos en tuberculosis cutánea de alrededor de 50% y en individuos sanos de 20%<sup>34</sup>. Una variante de ELISA es el ELISPOT (combinación de la técnica habitual de ELISA con la de ensayo de formación de placas) que ayuda a la detección de células secretoras de anticuerpos en respuesta a infecciones y vacunación<sup>79</sup>.

- 10) **Inmunoelctrotransferencia o Western Blot**, permite identificar los patrones de reconocimiento antigénico de los anticuerpos de un suero problema.
- 11) **Determinación de anticuerpos tipo lipoarabinomanana mediante inmunodot (Mycodot)**; es una PCR modificada que utiliza a la lipoarabinomanana, lipopolisacárido que forma parte de los antígenos dominantes de la pared celular micobacteriana, e induce reacciones inmunes puras. El diagnóstico se hace al detectar una IgG específica contra LAM y su inconveniente es que al existir infección simultánea por HIV, disminuye su sensibilidad a 10.6%. Tiene una sensibilidad de 91% y especificidad de 72%<sup>81</sup>.
- 12) **PCR** (polymerase chain reaction/ policlonal reaction) cuya utilización se enfoca principalmente al estudio del lupus vulgar<sup>82 83</sup> y de las tuberculides<sup>84 85 86 87</sup>, la cual desglosaremos más adelante.
- 13) **Fluorescencia con auramina-rodamina y otras reacciones inmunohistoquímicas** (fig. 20), se utilizan cuando la cantidad de bacilos presentes en las muestras es escasa (incluso negativa con Ziehl Neelsen); con auramina-rodamina los bacilos se observan rojo-dorados, el fondo oscuro y los artefactos en fluorescencia amarilla<sup>88</sup>.



**Fig. 20** Fluorescencia para bacilos de *M. tuberculosis*.

Se observan los bacilos amarillo intenso, en un fondo verde.

Fotografía tomada de Internet

- 14) **Rhodamine 123 y diacetato de fluoresceína**, usados experimentalmente, miden el potencial de membrana bacteriano después de 24 h de incubación del mismo.
- 15) **Bioluminiscencia**. Consiste en la introducción de un gen luminiscente en un virus específico contra la micobacteria, se incuba durante 5 a 7 días y lectura posterior. Detecta el ATP micobacteriano.<sup>89</sup>
- 16) **Inoculación en animales**, método ya no tan utilizado por la dificultad técnica y costo de mantenimiento del bioterio, pero altamente específico para el diagnóstico de la enfermedad<sup>21</sup>.
- 17) Determinación de **inmunoglobulinas**, ya que ocasionalmente se observa incremento en IgG e IgA y determinación de anticuerpos antinucleares (ANA) que en el eritema indurado de Bazin pueden tener un patrón citoplásmico con cifras de 1:160<sup>11</sup>.
- 18) **Cromatografía** de ácido micólico. Que al separar por medios físicos a la micobacteria, permite observar las diferencias moleculares de la misma, principalmente la presencia del ácido tuberculoestearico y las analiza mediante cromatofía de masa – espectrometría<sup>26</sup>. Su sensibilidad es de 55% y especificidad de 87%<sup>66</sup>.
- 19) **Prueba terapéutica**, se considera que si el resto de los estudios no son consistentes, pero el cuadro clínico es de alta sospecha de la enfermedad, debe iniciarse el tratamiento antifímico, cuya respuesta será el factor más importante para sustentar el diagnóstico<sup>2</sup>.

## **REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)**

(Polymerase chain reaction/ policlonal reaction). Sirve como índice de la actividad metabólica del microorganismo.

Se realiza hibridizando DNA con el complejo RNA de la micobacteria, esto es, se obtiene un fragmento de DNA bacteriano de alguna muestra clínica, posteriormente se amplifica y copia éste DNA y finalmente se tipifica mediante la obtención y lectura de los diversos pesos moleculares que caracterizan a cada microorganismo.

Como ya se mencionó, su principal uso en piel se ha enfocado a lupus vulgar<sup>32 33</sup> y el estudio de las tuberculides<sup>34 35 36 37</sup>.

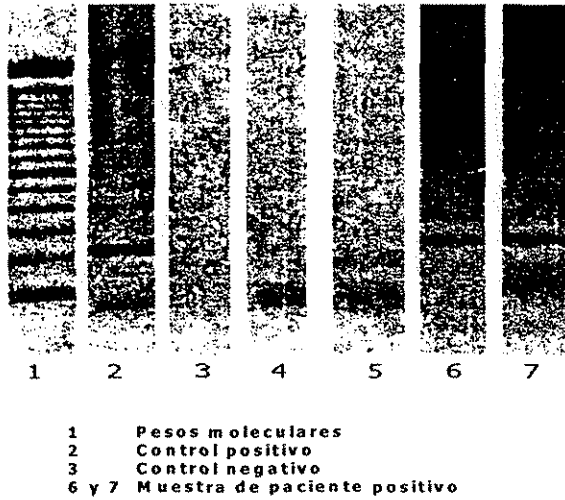
En las muestras cutáneas<sup>90</sup> se estima la sensibilidad en 95% y su especificidad de 99% (fig. 21), comparado con el cultivo<sup>66</sup>, por lo que se considera por lo menos tan útil como el cultivo u otros métodos diagnósticos<sup>91 92</sup>.

Su eficacia se estima en 77.1%, elevándose a 90% cuando se realiza cultivo adicional y sus mayores ventajas son que tarda solo 3-5 días en realizarse y el análisis puede hacerse en cualquier tejido o secreción<sup>96 93 94 95 96</sup>, además de que se puede tipificar la micobacteria implicada<sup>97</sup>.

Para la amplificación de los fragmentos de DNA bacteriano se utilizan los siguientes "primers":

- a. pT1 y pT2 que amplifican el fragmento 396bp.
- b. T4, 762, T5 y 865 que amplifican el fragmento IS6110, marcador genético específico de *Mycobacterium tuberculosis*<sup>98 99 100</sup>.
- c. RFPL (análisis de restricción de polimorfismo del fragmento largo), que inserta la secuencia IS6110 de la micobacteria para su análisis por PCR<sup>101</sup>.
- d. Para los controles negativos suele utilizarse la secuencia 202bp del gen beta actina.
- e. "Primer" para detección del fragmento del antígeno de 65kd, útil en las lesiones cutáneas (tuberculides), ya que es el mismo antígeno que se visualiza en el análisis por PCR de los cultivos, establecido por Pao, et al.<sup>102</sup>

No obstante la PCR se ha utilizado en diversos tejidos y secreciones<sup>103 104</sup>, encontrando resultados variables, como en las biopsias de pericardio en que son altas las sensibilidades y especificidades (80%), comparadas con sensibilidades bajas en el líquido pericárdico (15%)<sup>105</sup> y exudados pleurales (20% de sensibilidad y 96% de especificidad)<sup>106</sup>.



**Fig. 21 PCR en piel de una mujer de 26 años de edad.**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **TRATAMIENTO:**

El tratamiento para la tuberculosis está encaminado a los siguientes objetivos microbiológicos<sup>8</sup>:

1. Matar a los microorganismos viables que se encuentran multiplicándose para el control de la enfermedad y disminución de la infectividad (actividad bactericida temprana).
2. Eliminar bacterias de lento crecimiento para disminuir las recaídas (actividad esterilizadora).
3. Prevenir la resistencia a las drogas, que se ha incrementado por el uso indiscriminado de antibióticos, que llegan a ocasionar resistencia cruzada.

Se postula que existen tres tipos de poblaciones bacterianas en la infección tuberculosa humana; el mayor número corresponde a la población de organismos en crecimiento extracelular (con posibilidad de resistencia a los antibióticos), un menor número corresponde a microorganismos de lento crecimiento o intermitente, dentro de los macrófagos, dentro de un pH ácido y finalmente el tercer grupo corresponde a microorganismos de crecimiento lento o intermitente dentro de áreas caseosas en donde el pH es neutro. Por ello se requieren mucho más de 2 semanas de tratamiento para el tratamiento en cualquier forma de tuberculosis.<sup>107</sup>

Previo a la era de los antibióticos se utilizaban diversos métodos terapéuticos como la dieta de Gerson-Sauerbrack, que suprime la harina, sal, carnes, cacao y azúcar de la dieta<sup>17</sup>. Asimismo se utilizaban diversos tónicos, cirugía local, termocauterización, escarificación (Vidal), fototerapia (Finsen) y radioterapia<sup>51</sup>.

En 1946 Lehman uso el ácido paraaminosalicílico a dosis de 10-20 g/día, con poco efecto bactericida y si efectos secundarios gastrointestinales como vómito y diarrea.

Los esquemas de tratamiento habituales incluyen a los siguientes fármacos:

La **isoniacida** es el más bactericida para las formas activas intracavitarias e intramacrófago; su actividad se puede observar incluso en los primeros 5 días de tratamiento antituberculoso, disminuyendo la concentración bacilar en el esputo<sup>108</sup>. Se ha encontrado asociación significativa entre fenotipos de acetiladores rápidos y la actividad

bactericida temprana, lo que sugiere que la actividad bactericida de la isoniazida durante los 2 primeros días de tratamiento depende en mucho del tamaño de la cantidad de la droga que alcanza el bacilo, de modo que conforme se incrementa la dosis de la droga se alcanza su valor bactericida máximo.<sup>109</sup> Pero por sus efectos 2º de neuropatía periférica (en aproximadamente 0.6%)<sup>110</sup> se debe administrar simultáneamente piridoxina a 10mg/k/d. También pueden encontrarse erupciones cutáneas (2%), fiebre (1.2%), malestar general (0.5%).

Adicionalmente se ha encontrado que el tratamiento con monoterapia de isoniazida no es apropiado para lupus vulgar, ya que se observan recidivas.<sup>111</sup>

Las dosis empleadas en las formas de tuberculosis cutánea, principalmente la tuberculosis verrugosa son de 3-10 mg/kg/día máximo 300mg/día, durante hasta 7 meses.<sup>112</sup>

La **rifampicina** actúa contra los bacilos en las tres poblaciones de bacilos descritas y principalmente en bacilos inactivos que se hacen activos.

Pertenece al grupo de las rifamicinas, antibióticos macrocíclicos, producido por *Streptomyces mediterranei*, de metabolismo hepático mediante una esterasa que lo desacetila (es un potente inductor del sistema microsomal hepático, por lo tanto tiene importantes interacciones medicamentosas). En pequeñas dosis es bactericida contra micobacterias y organismos gram positivos y a dosis elevadas es eficaz, contra gram negativos; su blanco, contra el que actúa, es el DNA dependiente de una RNA polimerasa citoplásmica, daña los ribosomas e inhibe la síntesis proteica y en las micobacterias inhibe la incorporación de un sulfato en los lípidos y un sulfuro en las proteínas.<sup>113</sup>

La dosis estandar es de 8-20 mg/kg/d máximo 600mg/día, suele tomarse en dosis única matutina de 450-600mg (cápsulas de 150 y 300mg), el tiempo de administración es de un mínimo de 6 meses y puede incrementarse de acuerdo a la evolución clínica de las lesiones.

Efectos secundarios generales que deben considerarse en mujeres en edad fértil, es su inhibición en la efectividad de anticonceptivos<sup>114</sup>; los efectos secundarios en piel son eritema, prurito, conjuntivitis, urticaria y lesiones maculo-papulares y lesiones acneiformes principalmente<sup>112</sup>.



La **pirazinamida** es bactericida en microorganismos intracelulares, sobre todo dentro del macrófago, por lo que requiere un medio ácido para su acción; no actúa en bacilos inactivos. La dosis es de 15-30mg/kg/día. Es hepatotóxica y puede ocasionar también artritis<sup>112</sup>.

La **estreptomina** es bacteriostática y bactericida solo contra organismos extracelulares que crecen activamente. Se utiliza a dosis de 15-20mg/kg/día máximo 1g/día ó 2 g/semana y la dehidroestreptomina a dosis de 0.5g. Ocasiona vértigo por lesión del 8º par.

El **etambutol**, se da a dosis de 15-25 mg/kg/día y dentro de sus reacciones secundarias ocasiona disminución de la capacidad visual (0.8%), reacciones cutáneas como rash y prurito principalmente (0.5%) y fiebre (0.3%) <sup>112</sup>.

## **ESQUEMA DE LA OMS Y DE LA N.O.M. 1998**

El esquema con 3 fármacos<sup>115 116</sup> sirve para disminuir la población de bacilos viables y dura de 8-12 semanas, posterior a lo cual se debe administrar un esquema con 2 fármacos por varios meses <sup>117 37</sup> Éste esquema es el mismo que se ultiza en México, lo cual está estipulado en la Norma Oficial Mexicana de 1998<sup>16</sup>.(figs. 22 y 23).

La administración de medicamentos se realiza de la siguiente manera para pacientes que pesan entre 50-70kg y se administran 1-2 horas antes de las comidas:

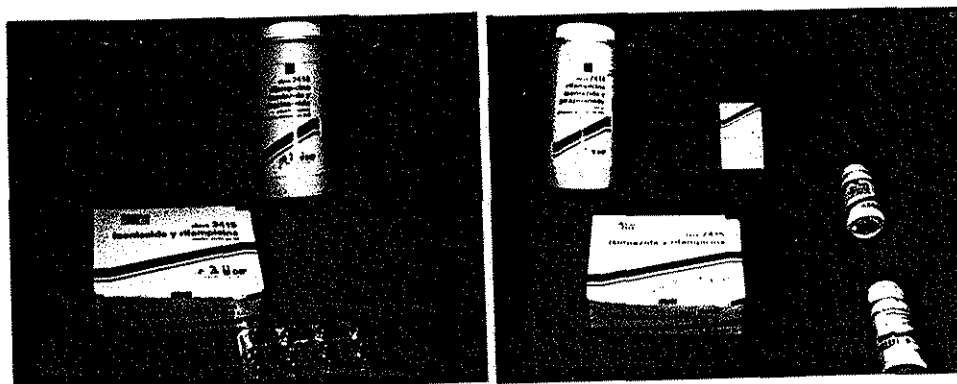
### **FASE INTENSIVA**

<b>MEDICAMENTO</b>	<b>FORMULA</b>	<b>DOSIS</b>	<b>DIAS DE ADMINISTRACIÓN</b>
Rifater (grageas)	Rifampicina 150mg Isoniazida 75 mg Pirazinamida 400mg	4 grageas juntas	Diario por 10 semanas

FASE DE SOSTEN

MEDICAMENTO	FORMULA	DOSIS	DIAS DE ADMINISTRACIÓN
Rifinah (cápsulas)	Rifampicina 150mg Isoniacida 200mg	4 cápsulas juntas	2 veces por semana por 15 semanas

En pacientes que pesan entre 40-50kg la dosis de Rifater en fase intensiva es de 3 grageas diarias y la de Rifinah , en la fase de sostén, es de 3 cápsulas juntas 2 veces a la semana. En pacientes de más de 70 kg la dosis es de 5 grageas diarias en fase intensiva. En pacientes que pesan menos de 40 kg, la dosis se calcula en mg por kg de peso y se administran los medicamentos por separado<sup>115</sup>.



**Figs. 22 y 23 Medicamentos antifímicos usados en el Sistema Nacional de Salud Mexicano (Esquema de la OMS)**

No obstante en 1997 la OMS y la Unión Internacional de Lucha en contra de la Tuberculosis y Enfermedades Pulmonares comunican la prevalencia de la resistencia a isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol en 35 países; el cálculo de estas prevalencias se realizó al obtener cultivos clínicos con determinación de antibiograma,

entre los años de 1994 y 1997. Por lo que se estima resistencia primaria a cualquier droga de 9.9% y multiresistencia primaria de 1.4%.<sup>118</sup> Para México en un estudio realizado en 1997, se publicó resistencia primaria a una o más de las drogas de primera línea, del 12% y resistencia adquirida del 50%, por lo que México podría tener el 9º lugar de resistencia primaria a al menos una de las 4 drogas de primera línea contra tuberculosis.<sup>119</sup> Para resistencia en enfermos ya tratados se comunicó en México en 1992, en un estudio del Instituto Nacional de Diagnóstico y referencia epidemiológica (InDRE) un 62% de cepas<sup>35</sup>. En la clínica se conoce el efecto amplificador de la resistencia con el uso de esquemas de tratamiento cortos, aún a pesar de ser estrictamente supervisados<sup>120</sup>

Gracias a estudios de biología molecular se sabe que la resistencia se genera a partir de diversos mecanismos bacterianos, dentro de los que se encuentra la acumulación de mutaciones en los genes que codifican para los sitios blanco<sup>121</sup>; las cuales pueden generar sitios de unión alterados o cambios en la titulación de la droga. En otros estudios se ha observado que la bacteria requiere hacer cambios genéticos mínimos (18 genes de alrededor de 4000 rastreados para isoniazida) para alterar las enzimas que codifican la síntesis de ácidos grasos tipo II y trehalosa dimicolil transferasa; por lo que se considera que son los cambios en la concentración de la droga (por falta de apego terapéutico) y presencia de "santuarios" en donde la droga no alcanza concentraciones críticas, los que permiten la resistencia de la bacteria a fármacos, a diferencia de la acumulación de mutaciones.<sup>122</sup>

Aunque no se ha logrado dilucidar el mecanismo para la resistencia múltiple a fármacos, modelos matemáticos indican que ésta se genera por santuarios protectores del germen en los tejidos y no por la acumulación de mutaciones de genes que codifican para la resistencia<sup>123</sup>.

Dentro de otros fármacos que se ha utilizado para el tratamiento de tuberculosis, principalmente pulmonar, se encuentran las flouoroquinolonas y de estas la ciprofloxacina a dosis de 1500 mg/día es útil en casos resistentes a tuberculostáticos y tuberculocidas habituales, además de tener una actividad bactericida temprana mayor que la isoniazida.<sup>124</sup>

También se utilizan el ácido p-aminosalicílico, etionamida, cicloserina, amikacina/kanamicina y ofloxacina<sup>96</sup>, así como interferón gamma en aerosol en casos de enfermedad pulmonar<sup>125</sup>.

Adicionalmente se han utilizado cirugía (para disminuir la carga bacilar en un intento por controlar la infección), corticoides, yoduro de potasio<sup>126</sup>, antiinflamatorios no esteroideos como tratamiento simultáneo y auxiliar en tuberculosis cutáneas.<sup>127</sup>

## **EVALUACION DE TRATAMIENTO**

Para la evaluación de programas de prevención y control de tuberculosis, se utiliza la revisión anual de cohortes de casos comprobados bacteriológicamente según esquema de tratamiento iniciado y resultados al final del periodo de tratamiento correspondiente al esquema terapéutico. En México con estas evaluaciones se ha determinado que hay mayor efectividad en el tratamiento supervisado de corta duración, lo cual se refleja en el porcentaje de curaciones en tuberculosis pulmonar <sup>1</sup>.

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿ Es la PCR un método diagnóstico eficaz para la confirmación de Tuberculosis cutánea?.  
La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es de mayor eficacia que la correlación clínico- histopatológica para el diagnóstico de la tuberculosis cutánea.

### **4. OBJETIVO GENERAL:**

Determinar la sensibilidad y especificidad de la PCR, en comparación con el que consideraremos el estándar de oro (correlación clínico-histopatológica), en pacientes con tuberculosis cutánea que consultaron en el Centro Dermatológico Pascua, durante el periodo del 1º de octubre del 2000 al 31 de marzo del 2001.

#### **4.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS:**

1. Determinar las características sociodemográficas y clínicas de pacientes con sospecha de tuberculosis cutánea.
2. Determinar los tipos de tuberculosis cutánea y su concordancia clínico-patológica en los casos estudiados.
3. Evaluar la sensibilidad y especificidad de la PCR, para el diagnóstico de tuberculosis cutáneas.
4. Determinar la concordancia diagnóstica, entre la histopatología y la PCR.
5. Realizar un algoritmo para el diagnóstico confirmatorio en pacientes con diagnóstico presuntivo de tuberculosis cutánea.

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿ Es la PCR un método diagnóstico eficaz para la confirmación de Tuberculosis cutánea?.  
La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es de mayor eficacia que la correlación clínico- histopatológica para el diagnóstico de la tuberculosis cutánea.

### **4. OBJETIVO GENERAL:**

Determinar la sensibilidad y especificidad de la PCR, en comparación con el que consideraremos el estándar de oro (correlación clínico-histopatológica), en pacientes con tuberculosis cutánea que consultaron en el Centro Dermatológico Pascua, durante el periodo del 1º de octubre del 2000 al 31 de marzo del 2001.

#### **4.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS:**

1. Determinar las características sociodemográficas y clínicas de pacientes con sospecha de tuberculosis cutánea.
2. Determinar los tipos de tuberculosis cutánea y su concordancia clínico-patológica en los casos estudiados.
3. Evaluar la sensibilidad y especificidad de la PCR, para el diagnóstico de tuberculosis cutáneas.
4. Determinar la concordancia diagnóstica, entre la histopatología y la PCR.
5. Realizar un algoritmo para el diagnóstico confirmatorio en pacientes con diagnóstico presuntivo de tuberculosis cutánea.

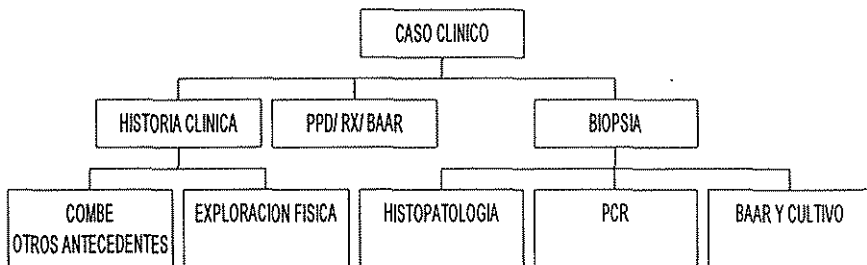
## **5. MATERIAL Y METODOS:**

Se seleccionaron a los pacientes con diagnóstico clínico de tuberculosis cutánea de la consulta del Centro Dermatológico Pascua durante el periodo del 1º de octubre del 2000, al 31 de marzo del 2001, se les invitó a participar en el estudio **(anexo 1)**. Los que aceptaron y reunían los criterios de inclusión/ exclusión **(anexo 2)**, firmaron una carta de consentimiento para su participación en este estudio **(anexo 3)**.

Se efectuó: historia clínica completa **(anexo 4)**, exámenes de laboratorio como: biometría hemática (BH), química sanguínea (QS), determinación de transaminasas (TGO y TGP), examen general de orina (EGO) **(anexo 5)**; estudios de serología (ELISA y Western Blot) **(anexo 6)**; intradermorreacción con PPD **(anexo 7)**, baciloscopías (BAAR) en orina y esputo (a los tosedores crónicos) **(anexo 8)**, así como biopsia de las lesiones cutáneas **(anexo 9)**.

El tejido obtenido de la biopsia se dividió en 2 porciones, una de las cuales se fijó en formol al 10% y se incluyó en parafina para su análisis histopatológico, que junto con la correlación clínica se consideró el estándar de oro **(anexo 10)**. El fragmento restante se dividió y se colocó en solución salina; un fragmento se analizó mediante la técnica de PCR **(anexo 11)** y el otro se cultivó en medio Lowenstein Jensen y Stone Brike **(anexo 12)**. Finalmente se analizaron los resultados.

### 5.1 PLAN DE TRABAJO



### 5.2 TIPO DE ESTUDIO

El estudio fue de tipo prospectivo, transversal, comparativo.

### 5.3 POBLACIÓN

Pacientes con sospecha clínica de tuberculosis cutánea, de cualquier edad y sexo.

### 5.4 TAMAÑO DE LA MUESTRA /PERIODO DEL ESTUDIO

La muestra constó de 49 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión, estudiados entre el 1º de octubre del 2000 al 31 de marzo del 2001 (6 meses).



## 6.VARIABLES A ESTUDIAR

Describimos la forma en que se consignaron los resultados en nuestro estudio.

1. Resultados de la PCR, positivos (+) y negativos (-).
2. Histopatología, se consideraron positivos (+) a aquellos que cumplieron con los criterios histológicos para el diagnóstico de tuberculosis cutánea, así como los que fueron compatibles con tuberculosis o que sugirieron el diagnóstico de tuberculosis. Resultados negativos (-) fueron aquellos cuya histología correspondió a otra dermatosis.
3. Cultivos, se consideraron positivos(+) los que desarrollaron colonias de *Mycobacterium tuberculosis* y negativos (-) en los que no hubo desarrollo de colonias consideradas como típicas.
4. Baciloscopías (BAAR) en orina, tejido y esputo (en pacientes con tos crónica), se anotaron como positivo (+) o negativo (-); se tomó en cuenta en número de bacilos observados, medido en cruces, siendo:
  - Negativo ó 0 cuando no se encuentran bacilos en 100 campos.
  - .+ si es < de 1 bacilo /campo en 100 campos.
  - .++ 1-10 bacilos/campo en 50 campos.
  - .+++ >10 bacilos/campo en 100 campos.
5. PPD, se mide en centímetros y se considera intensamente positivo (respuesta hiperérgica) con +++, positivo (respuesta normérgica) ++ y +, negativo (respuesta anérgica) 0.
  - De 5-10 mm + = infiltración y eritema
  - De 11-15 mm ++ = pápula, eritema e infiltración
  - De 16- 20 mm +++ = pápula, con mayor infiltración y eritema
  - Mayor 20 mm ++++ = necrosis
6. Tipo de tuberculosis cutánea, tomando como base la clasificación de Latapí, Escalona y Estrada (página 21).
7. Variables sociodemográficas:
  - a. Edad, se midió en años.
  - b. Sexo, masculino (M) y femenino (F).

- c. Estado civil, se consideraron: soltero(a), casado(a), viudo(a), divorciado(a) y unión libre.
  - d. Escolaridad, analfabeta, primaria, secundaria, preparatoria y licenciatura.
  - e. Lugar de origen y residencia, se consignó el estado de la República en el que se localizaron las entidades.
8. Antecedentes familiares, de los que importó el contacto previo con enfermos con tuberculosis (Combe), describiéndose como positivo (+) ó negativo (-).
  9. Inmunizaciones, es útil para el estudio el antecedente (+) o no (-) de vacuna BCG.
  10. Alimentación e higiene se clasificó como buenos, regulares o malos; considerando como bueno aquellos que se bañan diario, se asean la boca después de cada comida, asean sus manos antes de preparar alimentos o ingerirlos e ingieren equilibradamente de carbohidratos, grasas y proteínas (3 comidas al día).
  11. Antecedentes personales patológicos de tuberculosis, si tuvieron la enfermedad (+); si no tuvo la enfermedad (-). En caso de haber cursado con tuberculosis, se especificó el órgano afectado.

## **7. ASPECTOS ETICOS**

Todos los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión y aceptaron voluntariamente participar en el proyecto, fueron informados de los objetivos a lograr mediante el estudio y obtuvieron el informe individual de los estudios realizados en forma escrita.

- c. Estado civil, se consideraron: soltero(a), casado(a), viudo(a), divorciado(a) y unión libre.
  - d. Escolaridad, analfabeta, primaria, secundaria, preparatoria y licenciatura.
  - e. Lugar de origen y residencia, se consignó el estado de la República en el que se localizaron las entidades.
8. Antecedentes familiares, de los que importó el contacto previo con enfermos con tuberculosis (Combe), describiéndose como positivo (+) ó negativo (-).
  9. Inmunizaciones, es útil para el estudio el antecedente (+) o no (-) de vacuna BCG.
  10. Alimentación e higiene se clasificó como buenos, regulares o malos; considerando como bueno aquellos que se bañan diario, se asean la boca después de cada comida, asean sus manos antes de preparar alimentos o ingerirlos e ingieren equilibradamente de carbohidratos, grasas y proteínas (3 comidas al día).
  11. Antecedentes personales patológicos de tuberculosis, si tuvieron la enfermedad (+); si no tuvo la enfermedad (-). En caso de haber cursado con tuberculosis, se especificó el órgano afectado.

## **7. ASPECTOS ETICOS**

Todos los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión y aceptaron voluntariamente participar en el proyecto, fueron informados de los objetivos a lograr mediante el estudio y obtuvieron el informe individual de los estudios realizados en forma escrita.

## 8. RECOPIACION Y PROCESAMIENTO DE DATOS

Los datos fueron recopilados por el investigador quien llevo una tabla de procesamiento de datos en donde se vaciaron todos los resultados, para su análisis posterior mediante el paquete informático SPSS 10.

### 8.1 ANALISIS Y ANALISIS ESTADISTICO

Se analizaron comparativamente mediante paquete informático SPSS 10.

Para cálculo de sensibilidad y especificidad se utilizará la tabla de contingencia de 2 x 2 con los siguientes parámetros:

		CASOS CONFIRMADOS	
		POSITIVOS	NEGATIVOS
ENSAYO EN EVALUACIÓN	POSITIVOS	Verdadero positivo (VP)	Falso positivo (FP)
	NEGATIVOS	Falso negativo (FN)	Verdadero negativo (VN)

Para cálculo de sensibilidad se usará la fórmula:  $[VP / VP + VN] \times 100$ .

Para cálculo de especificidad se usará la fórmula  $[FN / FN + FP] \times 100$

Para valores de sensibilidad y especificidad se calcularon intervalos de confianza de 95%.

Para valor predictivo positivo se usará la fórmula:  $[VP / VP + FP] \times 100$ .

Para valor predictivo negativo se usará la fórmula:  $[FN / FN + VN] \times 100$ .

Para las correlaciones se uso la fórmula: Histopatología (total)..... 100%

Estudio a valorar..... X %

Considerando que el estudio a valorar considera solo a los VP para su correlación.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **9.ADMINISTRACIÓN**

A. Personal – se informó a todos los médicos de la consulta del Centro Dermatológico Pascua, sobre el proyecto a realizar y se les solicitó su apoyo para reunir los pacientes con la dermatosis en estudio. El investigador se encargó de realizar la historia clínica, enviar los estudios de laboratorio, efectuar la lectura de PPD; toma de biopsia, envío y recopilación de resultados de PCR.

Los asesores fueron las Dras. María del Carmen Padilla y Josefa Novales del CDP y el Dr. Alejandro Escobar del InDRE.

B. Facilidades y recursos- se contó con el apoyo de los Laboratorios General y de Dermatopatología del Centro Dermatológico Pascua y de los Laboratorios de Micobacterias, Biología Molecular e Inmunología, para la realización del estudio de PCR y cultivos, del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE).

FINANCIAMIENTO: Los recursos para los estudios inmunológicos y de biología molecular, se otorgaron en el InDRE (INVI 001); los estudios histopatológico, PPD, BAAR y de laboratorio general se realizaron con recursos propios del paciente, en el Centro Dermatológico Pascua.

C. Autorización- el estudio se realizó bajo la aprobación de los asesores, de los comités de Investigación del CDP y del InDRE y de los investigadores participantes del InDRE.

D. Protección de los pacientes- los pacientes participaron de forma voluntaria en el estudio.

### **9.1 PARTICIPANTES:**

- Por el Pascua: Dra. Larissa Dorina López Cepeda
  - Dra. María del Carmen Padilla Desgarenes
  - Dra. Josefa Novales Santa Coloma
- Por el InDRE: Dr. Alejandro Escobar Gutiérrez
  - Dr. Hiram Olivera
  - QFB. Susana Balandrano
  - QFB. Silvia González
  - QFB. Armando Carrera
  - QFB. Verónica Gutiérrez

- Otros participantes: Departamento de Informática del CDP  
Departamento de Dermatopatología del CDP  
Biblioteca del CDP

## **10. UTILIZACIÓN DE LA INFORMACION**

Los resultados serán empleados como tesis para la Especialidad en Dermatología, podrán además ser presentados en sesiones académicas y científicas nacionales y del extranjero, se buscará, por otra parte, que sean publicados en alguna revista de prestigio indexada y con comité editorial. En todos los casos se dará amplio crédito autoral a los participantes en el trabajo.

- Otros participantes: Departamento de Informática del CDP  
Departamento de Dermatopatología del CDP  
Biblioteca del CDP

## **10. UTILIZACIÓN DE LA INFORMACION**

Los resultados serán empleados como tesis para la Especialidad en Dermatología, podrán además ser presentados en sesiones académicas y científicas nacionales y del extranjero, se buscará, por otra parte, que sean publicados en alguna revista de prestigio indexada y con comité editorial. En todos los casos se dará amplio crédito autoral a los participantes en el trabajo.

## 11. RESULTADOS

Se tomó una muestra de 50 individuos sospechosos de tuberculosis cutánea y realizaron estudios clínicos, histopatológico, bacteriológicos e inmunológicos. Fue eliminado un paciente por no cumplir los criterios de inclusión.

### CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS:

A continuación se desglosan los datos sociodemográficos del grupo de pacientes en estudio y su diagnóstico clínico de envío.

#### Sexo

De los 49 pacientes estudiados, se encontró predominio de pacientes del sexo femenino con 40 casos (81.6%) y 9 del sexo masculino (18.4 %).

Sexo	Femenino	Masculino	Total
pacientes	40	9	49
%	81.6%	18.4%	100.0%

#### Edad

Los rangos de edades fueron de 15 a 76 años, con un promedio etario de 37 años, encontrándose 68% de la población entre los 20 y los 53 años.

Edad	11 a 20	21 a 30	31 a 40	41 a 50	51 a 60	61 a 70	71 a 80	Total
Pacientes	7	16	9	6	4	4	3	49
%	14%	33%	18%	12%	8%	8%	6%	100%





### **Estado civil**

En relación al estado civil 20 pacientes eran casados (41%), siguiéndole en orden de frecuencia los solteros con 18 casos (37%) y 11 con otros estados civiles (22%).

Edo. Civil	Casados	Solteros	Unión libre	Viudos	Divorciados	Total
Pacientes	20	18	6	3	2	49
%	40.8%	36.7%	12.2%	6.1%	4.1%	100.0%

### **Escolaridad**

En cuanto a la escolaridad se encontraron dos pacientes analfabetas (4%), 12 pacientes con primaria completa (24%), 13 con secundaria y 13 con preparatoria (27% c/u) y 9 pacientes con licenciatura (18%).

Escolaridad	Analfabeta	Primaria	Secundaria	Preparatoria	Licenciatura	Total
Pacientes	2	12	13	13	9	49
%	4.1%	24.5%	26.5%	26.5%	18.4%	100.0%

### **Lugar de origen y residencia**

Respecto al lugar de origen 32 pacientes (65%) son del Distrito Federal, 6 del estado de México (12%), y 11 de otros estados (22%)

En cuanto al lugar de residencia: 31 pacientes (63%) del Distrito Federal, 16 (33%) del estado de México y 2 (4%) otros estados.



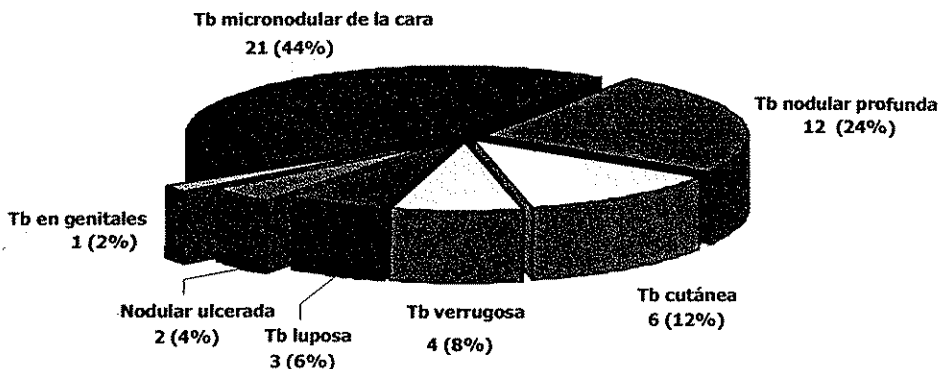
### **DIAGNÓSTICO CLÍNICO**

Diagnósticos presuntivos: tuberculosis (Tb) micronodular de la cara 21 pacientes (43%), Tb nodular profunda 12 (24%), Tb cutánea 6 (12%), Tb verrugosa 4 (8%), Tb luposa 3 (6%), Tb nodular ulcerada (de Hutchinson) 2 (4%), Tb genital 1 (2%).

Diagnóstico clínico	Pacientes	%
Tb micronodular de la cara	21	42.9%
Tb nodular profunda	12	24.5%
Tb cutánea	6	12.2%
Tb verrugosa	4	8.2%
Tb luposa	3	6.1%
Tb nodular ulcerada	2	4.1%
Tb genital	1	2.0%
Total	49	100.0%

Diagnóstico clínico de envío: Tuberculosis

N = 49



Fuente: Consulta general del Centro Dermatológico Pascua

ANTECEDENTES PARA TUBERCULOSIS

Treinta y seis pacientes (73%) dijeron haber recibido vacuna BCG durante la infancia. Doce pacientes (24%) tuvieron Combe positivo, 9 de ellos en familiares cercanos y 2 casos en conocidos con los que convivían diariamente; otro paciente mencionó el

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

antecedente de ingesta de leche sin hervir durante su infancia y juventud. De los 12 casos con Combe positivo, ocho (16%) tuvieron diagnóstico histopatológico de tuberculosis.

Seis pacientes refirieron el antecedente de tuberculosis extracutánea durante la infancia y/o juventud, cuatro pacientes confirmados (8%) y dos pacientes con el antecedente dudoso (4%); los cuadros que tuvieron los pacientes fueron: tuberculosis pulmonar (2 casos), Tb ganglionar (1 caso), Tb renal (1 caso). En todos estos pacientes el cuadro remitió con tratamiento antifímico durante por lo menos 6 meses. De los 6 pacientes con antecedente de tuberculosis extracutánea (pulmonar, ganglionar y renal), 5 tuvieron diagnóstico histopatológico de tuberculosis cutánea.

	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>DUDOSO</b>	<b>TOTAL</b>
<b>COMBE</b>	12	37	0	49
<b>BCG</b>	36	6	7	49
<b>Tb PREVIA</b>	4	43	2	49

**OTROS ANTECEDENTES DE IMPORTANCIA:**

Se consideró de importancia el tipo de hábitos dietéticos como posible factor inmunosupresor, encontrando sólo 15 casos (30%) con hábitos dietéticos de ingesta hipoproteica e hipercalórica; concomitantemente los hábitos higiénicos se refirieron inadecuados en 6 de estos casos. Asimismo antecedentes de enfermedades concomitantes con potencial inmunosupresor fueron consideradas, encontrando diabetes, leucemia y artritis reumatoide con enfermedad de Sjögren, con un caso cada uno; ninguno con tratamiento antifímico previo. Se señaló la presencia de otras enfermedades sin importancia para el cuadro con 3 casos con hipertensión arterial sistémica y 18 casos con miopía, irregularidades menstruales, cuadros gripales, etc.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

ESTUDIOS HISTOPATOLÓGICOS

Se realizaron 49 estudios histopatológicos, de estos 32 fueron positivos (65%), con imagen histológica correlativa con la clínica y 17 negativos (35%).

De los que resultaron positivos, 8 tuvieron imagen diagnóstica y 16 fueron compatibles.

Edad	Sexo	Tipo de tuberculosis presuntivo	Biopsia	Dx histopatológico
42	F	micronodular cara	n	Daño actínico/elastolisis
23	F	micronodular cara	n	Demodecidosis
32	F	micronodular cara	n	Demodecidosis
24	F	micronodular cara	n	Infiltrado inflamatorio crónico inespecífico
34	F	micronodular cara	n	Infiltrado inflamatorio crónico inespecífico
37	F	micronodular cara	n	Infiltrado inflamatorio crónico inespecífico
38	F	micronodular cara	n	linfocitoma cutis
62	F	micronodular cara	n	Infiltrado inflamatorio crónico inespecífico
19	F	micronodular cara	p	Compatible
25	F	micronodular cara	p	Compatible
52	F	micronodular cara	p	Compatible
47	M	micronodular cara	p	Granuloma tuberculoide
18	F	micronodular cara	p	Granuloma tuberculoide
28	F	micronodular cara	p	Granuloma tuberculoide + demodecidosis
63	F	micronodular cara	p	Granuloma tuberculoide, compatible con tuberculosis
49	F	micronodular cara	p	Granuloma tuberculoide
30	F	micronodular cara	p	Tuberculosis micronodular
28	F	micronodular cara	p	Tuberculosis micronodular
23	F	micronodular cara	p	Tuberculosis micronodular
23	M	micronodular cara	p	Tuberculosis micronodular
28	F	micronodular cara	p	Tuberculosis micronodular + demodecidosis
16	F	nodular profunda	n	Infiltrado inflamatorio crónico inespecífico
35	F	nodular profunda	p	Compatible
19	F	nodular profunda	p	Compatible
30	F	nodular profunda	p	Granuloma tuberculoide sugiere tuberculosis nodular
15	F	nodular profunda	p	granuloma tuberculoso
54	F	nodular profunda	p	paniculitis septal tardía, sugiere tuberculosis
27	F	nodular profunda	p	Sugiere tuberculosis nodular profunda
36	F	nodular profunda	p	Sugiere tuberculosis nodular profunda
32	F	nodular profunda	p	Sugiere tuberculosis nodular profunda
39	M	nodular profunda	p	Sugiere tuberculosis nodular profunda
41	F	nodular profunda	p	tuberculosis nodular profunda
28	F	nodular profunda	p	tuberculosis nodular profunda

Edad	Sexo	Tipo de tuberculosis presuntivo	Biopsia	Dx histopatológico
28	M	nodular ulcerada	n	ulcera crónica
63	M	nodular ulcerada	p	granuloma tuberculoso
61	F	tb cutánea	n	Infiltrado inflamatorio crónico inespecífico
59	F	tb cutánea	n	Granuloma crónico inespecífico
25	F	tb cutánea	n	Proceso granulomatoso
75	M	tb cutánea	p	Tuberculosis ulcerosa
24	M	tb cutánea	p	tuberculosis nodular profunda
49	F	tb genital	p	Granuloma tuberculoide
20	F	Verrugosa	n	Imagen psoriasiforme
17	M	Verrugosa	n	Granuloma de las Piscinas
76	F	Verrugosa	n	carcinoma espinocelular invasivo
51	F	Verrugosa	p	tuberculosis verrugosa
25	F	q. tboide	p	Compatible con tuberculosis micronodular
42	F	Luposa	n	angietis pentasintomática
37	F	Luposa	p	compatible con tuberculosis micronodular
76	M	Luposa	p	compatible con tuberculosis luposa

Los casos correspondieron a 5 casos con biopsia diagnóstica de tuberculosis micronodular y 9 de compatibilidad. Cuatro casos diagnósticos de tuberculosis nodular profunda y 7 de compatibilidad. Se encontraron un caso de tuberculosis verrugosa, uno de tuberculosis ulcerosa y uno de tuberculosis luposa.

De los 17 estudios histopatológicos negativos para tuberculosis, 2 casos tuvieron diagnóstico de demodocidosis, 2 casos de proceso granulomatoso crónico inespecífico, 6 de proceso inflamatorio crónico inespecífico, uno de linfocitoma cutis, un caso de granuloma de las piscinas, uno de epiteloma espinocelular invasivo, uno de imagen psoriasiforme, uno de vasculitis pentasintomática, uno de ulcera vascular y uno de daño actínico con elastolisis.

## CORRELACION

	HP + CLIN +	HP + CLIN -	HP - CLIN +	TOTAL	CORRELACION
CLINICA-HISTOPATOLOGIA	32	0	17	49	65.3%

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**PPD**

A 29 pacientes se les realizó intradermorreacción con PPD, resultando 13 positivos (45%) y 16 negativos (55%). Los 13 pacientes que resultaron positivos tuvieron también histopatología positiva para tuberculosis cutánea; dos de ellos con formas habitadas (1 caso de tuberculosis luposa y 1 caso de tuberculosis ulcerosa).

**BAAR**

Se realizaron 30 estudios de determinación de BAAR en orina, siendo 22 positivos (73%) y 8 negativos (26.6%). De los 22 casos con BAAR positivo, 16 tuvieron histopatología de tuberculosis cutánea, ninguno de ellos con formas habitadas.

En 2 casos se realizaron estudios BAAR en esputo, siendo negativos.

**CULTIVO**

Se obtuvo el desarrollo de *Mycobacterium tuberculosis hominis* en solo un caso (2%).

	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>NO SE REALIZO</b>	<b>TOTAL</b>
<b>PPD</b>	13	16	20	49
<b>BAAR</b>	22	8	19	49
<b>CULTIVO</b>	1	48	0	49

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**ELISA Y WB**

A todos los pacientes se les realizó determinación de anticuerpos mediante estudio de ELISA resultando 10 casos positivos y 39 negativos ( 1 caso cercano al corte). Correlación histológico- laboratorial 28.125%. Sensibilidad de 32 % y especificidad de 92 % con valor predictivo positivo de 80 % y valor predictivo negativo de 58 %, con correlación histológico-ELISA del 25%.

De los estudios de Western Blot (WB) realizados, 8 fueron positivos y 41 negativos, encontrando una sensibilidad de la prueba de 19 %, especificidad de 88 %, valor predictivo positivo de 50 % y valor predictivo negativo de 58 %. Correlación histológico-laboratorial 12.5%.

ESTUDIO	POSITIVO	NEGATIVO	SENSIBILIDAD %	ESPECIFICIDAD %	VPP %	VPN %
ELISA	10	39	25	88	80	38
WESTERN BLOT	8	41	12.5	82	57	33

**CORRELACIONES**

ESTUDIO	HP + ELISA +	HP + ELISA -	HP - ELISA +	TOTAL	CORRELACION
ELISA	8	21	2	32	25 %

HP = HISTOPATOLOGIA

ESTUDIO	HP+ WB +	HP+ WB -	HP - WB +	TOTAL	CORRELACION
WB	4	24	4	32	12.5 %

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## PCR

Se realizaron 48 estudios de PCR en biopsias de piel obteniendo 12 resultados positivos y 36 negativos, el estudio faltante se debió a falta de cooperación del paciente para la toma de la muestra.

Se obtuvo en los estudios de PCR en piel una sensibilidad de 42 %, especificidad de 92 %, valor predictivo positivo de 83 % y valor predictivo negativo de 61 %.

La correlación histológico-laboratorial fue de 31.25 %.

Asimismo se realizaron 49 estudios en suero y plasma, resultando 4 casos positivos en plasma y 6 en suero. Los estudios de PCR en plasma tuvieron una sensibilidad de 0 %, especificidad de 88 %, valor predictivo positivo de 0 % y negativo de 62 %, con correlación histológica-PCR plasma de 0%. En la PCR en suero se encontró una sensibilidad de 26 %, especificidad de 100 %, valor predictivo positivo de 100 % y valor predictivo negativo de 60 %, con una correlación histológico-PCR suero de 18.75%.

ESTUDIO	POSITIVO	NEGATIVO	SENSIBILIDAD %	ESPECIFICIDAD %	VPP %	VPN %
PCR PIEL	12	36	31	82	76	41
PCR SUERO	6	43	19	94	85	40
PCR PLASMA	4	45	3	83	25	33

## CORRELACIONES

ESTUDIO	HP+ PCR +	HP+ PCR -	HP- PCR +	TOTAL	CORRELACION
PCR PIEL	10	22	2	32	31.25 %
PCR SUERO	6	26	0	32	18.75 %
PCR PLASMA	0	28	4	32	0 %

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



#### OTROS DATOS DE LABORATORIO

Se realizaron estudios de laboratorio generales en 34 casos, en los cuales se analizaron datos como biometría hemática completa, encontrando anisocromia en 1 caso, leucocitosis en 3 casos y leucopenia en 1 caso; la determinación de la velocidad de sedimentación globular se encontraba aumentada en 14 pacientes. El examen general de orina se encontraba anormal, en 10 casos, 6 de los cuales eran por infección de vías urinarias.

## 12. DISCUSIÓN

La tuberculosis sigue siendo un problema prioritario de salud pública que debe atenderse; durante mucho tiempo estuvo asociada a pobreza, bajo nivel cultural, etc., sin embargo, en nuestro estudio, la mayoría de los pacientes viven en un nivel de escolaridad y socioeconómico medios, por lo que consideramos que cada vez hay más factores de riesgo que lo promueven, como son el hacinamiento dado por el incremento poblacional en las ciudades (como la ciudad de México), lo que facilita las infecciones entre los habitantes y por tanto hay mayor inmunosupresión.

Una de las manifestaciones extrapulmonares de la tuberculosis que menos se diagnostican en la Medicina General es la tuberculosis cutánea, debido a que tiene una gran variedad de manifestaciones clínicas, por lo que se requiere un mayor conocimiento en dermatología para su adecuada identificación. En el dermatólogo cuya preparación se ha dado en Centros Dermatológicos de concentración como el nuestro, proporcionan mayor concordancia clínico-patológica-laboratorial, lo que influye positivamente en el adecuado y oportuno tratamiento del padecimiento.

Hasta hace unos años en nuestro país, la descripción clásica de tuberculosis cutánea colocaba en el primer lugar de frecuencia a la tuberculosis colicuvativa; en los años 80's ocupa el primer lugar la tuberculosis nodular profunda<sup>24</sup> y en los años 90's es la tuberculosis micronodular de la cara la más frecuentemente vista<sup>3</sup>.

Es imprescindible para el diagnóstico de tuberculosis que se demuestre la presencia de bacilos ácido alcohol resistentes en secreciones accesibles como esputo y orina, en pacientes con sospecha de tuberculosis extracutánea (renal y pulmonar fundamentalmente), considerando que la sola demostración de bacilo ácido-alcohol resistente (BAAR) podría corresponder a cualquier otra micobacteria y la única forma de aseverar la presencia de *Mycobacterium tuberculosis* es mediante el cultivo; por ello es importante explicar ampliamente al paciente los estudios a los que debe someterse y convencerlo de realizarlos, así como capacitar al personal sobre la importancia de los mismos para así tener la cooperación de todos los servicios que lograrán que en un futuro,

disminuir la incidencia de la enfermedad. En nuestro estudio la determinación de BAAR en secreciones no se realizó en 19 casos por falta de adherencia del paciente.

El cultivo es la única forma de aseverar la presencia de *Mycobacterium tuberculosis* en los tejidos, no obstante es de difícil obtención en tejidos "duros" como la piel, ya que para ser cultivado se necesita obtener un extracto líquido.

Las formas de tuberculosis en que esperamos encontrar desarrollo de colonias de micobacterias, son las llamadas fijas o habitadas, en las que se observa el bacilo en la piel, ya que es en este sitio en donde coloniza y se reproduce. En las formas no habitadas existe controversia sobre su origen fímico, ya que se considera que se deben a hiperegrgia por un foco tuberculoso primario extracutáneo, por lo tanto no hay bacilos en la piel y no esperamos el desarrollo de colonias micobacterianas.

El caso del paciente en que se obtuvo un cultivo positivo, con desarrollo de *M. tuberculosis* variedad *hominis*, correspondió a tuberculosis luposa, variedad de tuberculosis cutánea considerada habitada; no obstante en los cortes de tejido con tinción para bacilos (Ziehl Neelsen y Fite Faraco) no se observaron bacilos y el cultivo desarrolló colonias pequeñas y escasas, por lo que se requirió recultivarlas en un medio enriquecido para su desarrollo y tipificación posterior. Consideramos que posiblemente hubo escaso desarrollo debido a que la piel es un tejido de difícil acceso para el bacilo, por los diversos mecanismos de vigilancia inmunológica, que impiden su permanencia y multiplicación.

En el resto de pacientes con tuberculosis habitadas (dos), consideramos que no hubo desarrollo de los cultivos, por la dificultad técnica. Los pacientes restantes correspondieron a formas no habitadas de tuberculosis. Se ha descrito una técnica que trata a las muestras cutáneas de casos con lepra indeterminada con tripsina, de modo que se incrementa el número de bacilos observados al digerir las células<sup>28</sup>, lo cual podría intentar implementarse para casos con tuberculosis habitadas, previo a la técnica de cultivo.

Hay métodos de cultivo efectivos más rápidos como el BACTEC y MGIT, cuyo mayor inconveniente es el costo.

Se menciona en la literatura, principalmente sajona<sup>2 8</sup>, al estudio de prueba cutánea (intradormorreacción) con PPD como dato clínico diagnóstico esencial. En México no es posible por la aplicación temprana de la vacuna con bacilo de Calmette Guerin y la gran

frecuencia de primoinfección en nuestra población, en algún momento de su vida, lo que dará la positividad a la prueba (alrededor del 20% de la población general es positiva); traspolado a nuestra población los resultados son inciertos. Por otra parte el antígeno es de difícil obtención, incluso en Centros de Salud y hospitales de concentración. En nuestro estudio no se aplicó en 20 pacientes por falta del recurso.

Observamos en 2 pacientes una reacción similar a la descrita en la literatura <sup>68</sup> con la aplicación de la intradermoreacción en pacientes con lesiones no habitadas, con importante edema, formación de ampolla e incluso necrosis en el sitio de inoculación, además de que nuestros pacientes presentaron malestar general, dolor intenso de las extremidades inferiores y febrícula vespertina, lo cual interpretamos como hiperergia a la tuberculina, que se sabe está determinado genéticamente.

Los estudios serológicos de ELISA y WB ofrecen ventajas de rapidez y precio, pueden hacerse en suero, pero solo demuestran antecedente de contacto con la bacteria; de modo que si el título es alto, es sugerente de enfermedad, pero siempre debemos interpretar los resultados en relación con el cuadro clínico, histopatología y datos epidemiológicos. En nuestro estudio se tuvo concordancia en 25 % y 12.5 % de pacientes respectivamente, pero con sensibilidades bajas, lo cual disminuye la utilidad de la prueba, pues suelen ser frecuentes los resultados falsos negativos<sup>129</sup>; así un resultado positivo, nos habla de la alta posibilidad de enfermedad extrapulmonar, pero un estudio negativo, no descarta la presencia de enfermedad. No obstante es un apoyo en casos que ameriten la administración temprana y oportuna de tratamiento (miliares, tuberculosis de sistema nervioso y otros).

La amplificación de genes de *Mycobacterium tuberculosis* mediante PCR, se considera que detecta cantidades muy bajas de DNA en muestras clínicas diversas; por lo que se ha empleado principalmente para tuberculosis miliar y pulmonar, con resultados de entre el 70-98% de sensibilidad y en muestras sospechosas de tuberculosis extracutánea, la técnica desarrollada en el laboratorio del INDR, obtiene especificidades por arriba del 88% y las siguientes sensibilidades:

- a. Orina – sensibilidad 85%
- b. Ganglio – sensibilidad del 88%

- c. Tuberculosis ósea con diagnóstico a través de muestra en sangre – sensibilidad de 93%.

En nuestro estudio solo 3 casos corresponden a formas "habitadas" de tuberculosis (Tuberculosis verrugosa, tuberculosis ulcerosa y tuberculosis luposa), por lo tanto esperábamos su positividad en PCR, sin embargo los 3 fueron negativos (falsos negativos). El resto de casos (29 pacientes) fueron tuberculides o formas "no habitadas", en las cuales no se espera encontrar al bacilo en las muestras, porque se originan a partir de un foco tuberculoso primario que produce antígenos circulantes, los cuales generan el cuadro clínico en piel. Estos focos pueden o no estar activos y pueden o no estar distantes de las manifestaciones cutáneas.

Se han comunicado casos de tuberculides, principalmente de eritema indurado de Bazin<sup>85-88</sup>, en los que la PCR ha mostrado positividad, por lo que decidimos someter también a nuestros casos de tuberculosis por hiperergia al estudio de PCR, encontrando 10 casos con PCR positivo (correlación clínico-patológica-laboratorial de 31.25%).

Los 19 casos con correlación clínico-histopatológica positiva y PCR negativa, pueden deberse a diversos factores, dentro de los que consideramos, en primer lugar a que existe dificultad técnica para la obtención del DNA de muestras de piel (por las características mismas del tejido), presencia de inhibidores no bien definidos que entorpecen al interferir en la amplificación del DNA<sup>110</sup>, variación en el número de microorganismos en cada muestra<sup>130</sup> y distribución heterogénea en las muestras (se ha visto que si hay pocos organismos se puede perder DNA durante la extracción), de modo que la muestra cultivada puede tener bacterias y la que va a estudio por PCR no<sup>131</sup>. Otras causas de falla en el diagnóstico con presencia de falsos negativos, son que haya fallado la digestión enzimática durante el proceso y análisis de un volumen inadecuado de la muestra. Para falsos positivos las causas involucradas pueden ser contaminación de las muestras durante su traslado, procesamiento, e intermuestras; presencia de bacterias muertas por una infección resuelta o bien que los primers detecten una amplia gama de DNA<sup>132</sup>.

Por otra parte, existen criterios histológicos bien establecidos y la experiencia de los patólogos de piel del Centro Dermatológico Pascua es muy amplia, mas varían el criterio y consideraciones de cada histopatólogo y sabemos que la histología no es diagnóstica de tuberculosis, pero la experiencia clínica de los Dermatopatólogos del Centro, logran la adecuada correlación clínico-patológica.

Finalmente hay una importante discusión, pues en la mayoría de estudios se realizan diagnósticos en muestras de piel ya procesados para su estudio histológico (parafinadas y en cortes finos), lo que por una parte podría facilitar la obtención del DNA de las células, pero también hace correr el riesgo que durante el procesamiento de los tejidos, se degrade el DNA y sea difícil su recuperación y amplificación<sup>133 134</sup>.

En nuestro estudio no se ha podido aún determinar la causa o causas que generaron los resultados obtenidos, pero si podemos observar que el PCR en piel tiene inconvenientes diagnósticos y que aún están por determinarse que la sola presencia de DNA puede no ser útil y si en cambio determinar los niveles de DNA microbiano significativos para el organismo, sitio estudiado y situación<sup>138</sup>.

Así tenemos diversas preguntas aún sin respuesta, principalmente: ¿ Son todos los casos de tuberculides con histopatología diagnóstica o compatible, realmente de etiología tuberculosa?, ¿Son los casos con PCR positiva debidos a un foco tuberculoso extracutáneo activo?, ¿Son los casos de histopatología positiva y PCR negativa de otro origen? Y finalmente ¿Debemos esperar que alrededor del 50% de casos con tuberculides sean PCR positivo?

Por otra parte, realizamos en forma complementaria, estudios de PCR en suero y plasma en todos los casos estudiados, esperando positividad en algunos de los casos, principalmente las formas habitadas, ya que se considera se deben a un foco tuberculoso primario activo, el cual puede en algunos casos liberar material genético al torrente sanguíneo; no obstante también los resultados fueron negativos.

En los casos de hiperergia o formas de tuberculosis cutánea no habitadas esperábamos o que todos fueran negativos (porque se liberan de los focos primarios principalmente material antigénico y no DNA) o muy pocos de ellos positivos y efectivamente, solo 6 casos fueron positivos en suero (correlación clínico-histológica.laboratorial 18.75%) y ninguno en plasma

Consideramos por lo tanto que para confirmar el diagnóstico de un caso sospechoso de tuberculosis cutánea, se deben tener en cuenta los siguientes niveles de inseguridad:

1. Clínico – dado que el diagnóstico es complejo por la presencia de signos positivos y negativos que se confunden; por ejemplo en el estudio 17 de 49 muestras fueron

clínicamente sospechosas de tuberculosis cutánea, pero negativas por diagnóstico histopatológico.

2. Histopatológico – hay imágenes que se consideran típicas de tuberculosis (granuloma tuberculoso), pero la presencia de un granuloma tuberculoide (como se observó en varios casos) no es patognomónico de tuberculosis y el diagnóstico se realiza por correlación clínico-patológica.
3. BAAR – se realizó únicamente en secreciones accesibles, intentando determinar el foco primario de infección; tuvo positividad en 22 casos, lo cual la hace una técnica muy aceptable aunque nos queda la duda de si todos los casos positivos fueron por *M. tuberculosis*, o se debieron a contaminación de las muestras por la presencia de otras micobacterias.
4. Cultivo – la positividad en solo 1 caso lo hace una técnica diagnóstica muy mala para casos de tuberculosis en piel, además de que es muy tardada, se requiere de un laboratorio especializado para su realización y debido a que la piel es un tejido, con diversos mecanismos de vigilancia inmunológica, podría impedirse la presencia de mayor cantidad de bacilos.
5. PCR – el método es sensible en otras muestras, pero hace pensar en la dificultad técnica para obtención de DNA de muestras de piel; con lo obtenido en nuestro estudio (similar al trabajo de Zuñiga<sup>4</sup>) debemos valorar su realización, como *complemento de los otros estudios, pues nos da un diagnóstico rápido, aunque con una baja sensibilidad y si bien es una técnica que aparenta ser altamente costosa, en grandes volúmenes no lo es.*
6. Serología- como ya comentamos, su positividad, nos habla de la alta posibilidad de enfermedad activa, pero un resultado negativo no la descarta.
7. Eficacia terapéutica – podría considerarse el determinante final de positividad de la enfermedad, en caso de que el paciente mejore con su administración, sin embargo, otras enfermedades pueden mejorar con los tratamientos antifímicos; no obstante nos enfrentamos a un problema social-económico, en que la falta de recursos o la escasez de los mismos, impide que el enfermo adquiera el tratamiento (su costo es de más de 1 salario mínimo). También en los casos donde se espera que su adquisición sea gratuita, como en Hospitales y Centros de Salud (puesto que es un programa prioritario de Salud), nos enfrentamos a la falta del

tratamientos suficientes y su obtención es difícil aún administrativamente, incluso en casos en donde el paciente tiene certeza diagnóstica; en nuestro estudio no se pudo concluir ésta fase.



### 13. CONCLUSIONES

Para nuestro estudio la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en piel no es un método eficaz para confirmar el diagnóstico de tuberculosis cutánea, dado que su sensibilidad fue del 42 % y su especificidad del 92 %, respecto al estándar de oro.

Las mujeres, de 21 a 30 años de edad, con estado civil casadas, nivel escolar medio, originarias y residentes del Distrito Federal, fueron las más frecuentemente afectadas por tuberculosis cutánea.

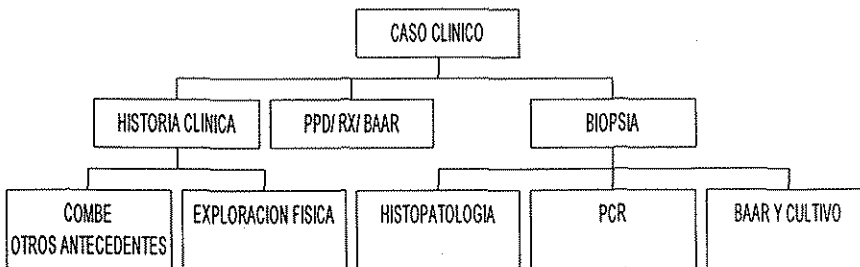
La tuberculosis micronodular de la cara, seguida de la tuberculosis nodular profunda, son los tipos de tuberculosis cutánea más frecuentemente estudiados en el Centro Dermatológico Pascua.

La histopatología confirmó en 32 casos la sospecha clínica de tuberculosis cutánea, con una correlación clínico patológica del 65.3%.

Hubo correlación histológico-PCR en piel de 31.25 %, con 10 casos.

Por ahora concluimos que la correlación clínico- histopatológica es aún el método diagnóstico "de oro" en tuberculosis de piel, que incrementa su certeza al realizar tinciones para bacilos en las muestras a estudiar, por lo que debemos considerar su realización en todos los casos sospechosos, esperando mayor certeza diagnóstica que con otros métodos.

Se sugiere seguir el flujograma que se muestra a continuación para pacientes sospechosos de tuberculosis cutánea:



## **14. ANEXOS:**

### **14.1 ANEXO 1 - FASES DE SELECCION:**

- a. Se informó a los médicos de la consulta del Centro Dermatológico Pascua, sobre el proyecto y se les solicitó su apoyo para el envío de pacientes con diagnóstico clínico de tuberculosis cutánea.
- b. Pacientes con diagnóstico presuntivo de tuberculosis cutánea estudiados en la consulta del Centro Dermatológico Pascua, en el periodo comprendido entre el 1º de octubre del 2000 y el 31 de marzo del 2001.
- c. El investigador evaluó cada caso y de cumplir con los criterios de inclusión /exclusión, participaron o no en el estudio.

### **14.2 ANEXO 2 - CRITERIOS DE INCLUSIÓN / EXCLUSIÓN**

#### **CRITERIOS DE INCLUSION**

Se incluyeron todos los casos de tuberculosis cutánea cuyo aspecto clínico fuera compatible o sospechoso de tuberculosis cutánea y que aceptaron voluntariamente participar en el estudio, dando su consentimiento por escrito, de acuerdo a los parámetros de la clasificación de Latapí, Escalona y Estrada, sin importar edad, sexo, estado civil, condiciones socioeconómicas y/o nutricionales. En los menores de 18 años, se informó a el (los) padre (s) o tutor(es) sobre el estudio y se solicitó su consentimiento por escrito.

#### **CRITERIOS DE EXCLUSION**

Se excluyeron del estudio a pacientes que no aceptaron participar y a los que se encontraban en tratamiento por tuberculosis cutánea y/o extracutánea. Se eliminaron del estudio a los pacientes que no cumplieron con todos los criterios de inclusión y a los que decidieron abandonarlo.

### 14.3 ANEXO 3 – CARTA DE CONSENTIMIENTO

México D.F., a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del \_\_\_\_\_.

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

Número de expediente: \_\_\_\_\_

Mediante el presente, una vez que he sido informado(a) cabalmente sobre los estudios a los que seré sometido (a), así como de sus beneficios, riesgos y posibles complicaciones; que he leído con detenimiento este escrito y su contenido es perfectamente comprensible para mi, estoy satisfecho con la información recibida y he podido formular todas las preguntas que he considerado conveniente, me han aclarado todas las dudas planteadas y el significado de los términos médicos que recoge. Acepto voluntariamente participar en el proyecto de investigación para diagnóstico de tuberculosis cutánea, el cual servirá para el diagnóstico y tratamiento de mi enfermedad y autorizo a los médicos investigadores del Centro Dermatológico Pascua a llevar a cabo los procedimientos correspondientes, asumiendo todas las consecuencias que del mismo deriven para efecto de deslindar responsabilidades. Si así lo requieren mis intereses puedo en algún momento retirarme voluntariamente del protocolo de estudio, sin ninguna obligación o compromiso de mi parte o del médico responsable y esto no interferirá con mi tratamiento.

\_\_\_\_\_  
Firma del paciente

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del padre o tutor

#### 14.4 ANEXO 4 – HISTORIA CLINICA

Mediante la historia clínica se intentó determinar el foco infeccioso y contactos del paciente (COMBE). Su contenido fue:

I. Ficha de identificación:

- . Nombre del paciente -----
- . Edad-----
- . Sexo-----
- . Estado civil-----
- . Escolaridad-----
- . Lugar de origen y residencia----
- . Número de expediente -----

II. Antecedentes familiares (Combe)

III. Antecedentes personales no patológicos:

- . Inmunizaciones
- . Alimentación, cantidad y calidad
- . Higiene

IV. Antecedentes personales patológicos:

- . Tuberculosis
- . Enfermedades crónicas

V. Interrogatorio por aparatos y sistemas

VI. Exploración física:

- . Signos vitales: TA \_\_\_\_ FC\_\_\_\_ FR\_\_\_\_
- . Exploración por segmentos

#### 14.5 ANEXO 5 – LABORATORIOS GENERALES

Se realizaron determinación de biometría hemática, química sanguínea, examen general de orina y determinación de transaminasas glutámico oxalacética y glutámico pirúvica, para determinar el compromiso e impacto sistémicos de la enfermedad en cada paciente y considerar si presentaban alguna alteración en la función enzimática hepática que limite su tratamiento.

14.6 ANEXO 6 –PRUEBAS SEROLOGICAS (ELISA Y WB)

Pruebas desarrolladas en el laboratorio de inmunología del InDRE a cargo del Dr. Alejandro Escobar y consiste en (figs. 24 Y 25):

**ELISA:** Se coloca muestra con BCG en medio líquido y se deja a crecimiento durante un periodo de 5 semanas, se filtra y la porción sólida (bacteria) se somete a ruptura de su estructura mediante sonido, hasta que se obtiene un extracto acuoso y se coloca en placas de agar, las cuales se lavan hasta unificar las placas en cuanto a su contenido y se les coloca un bloqueador.

El suero sospechoso se coloca sobre la placa y se le agrega un anticuerpo adicionado de una enzima (peroxidasa) y posteriormente un sustrato que realiza la conversión enzimática que genera una respuesta en forma de color, la cual se interpreta de acuerdo a su densidad óptica.

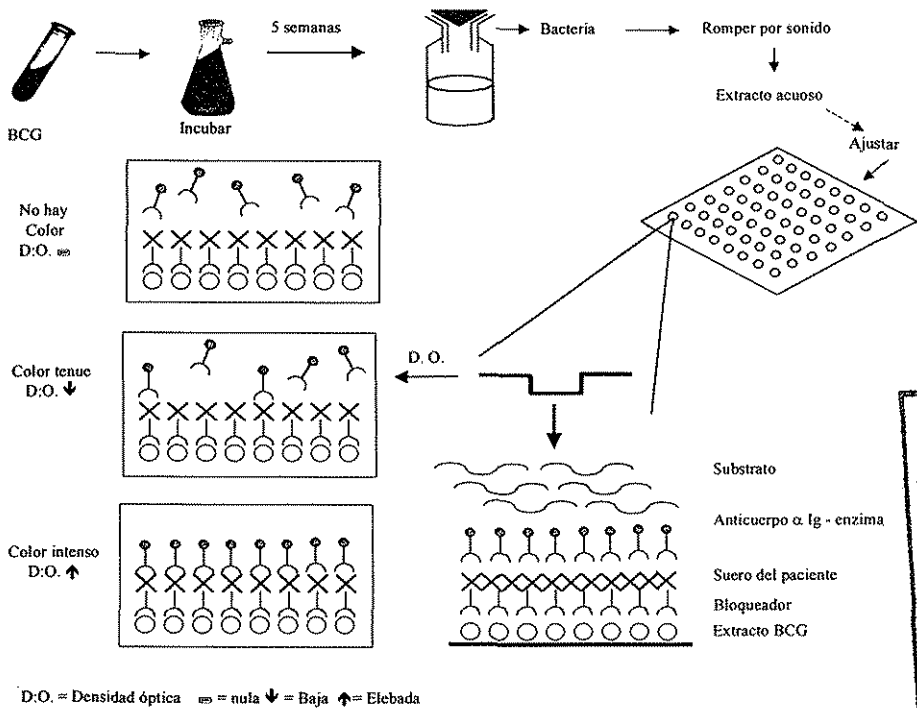
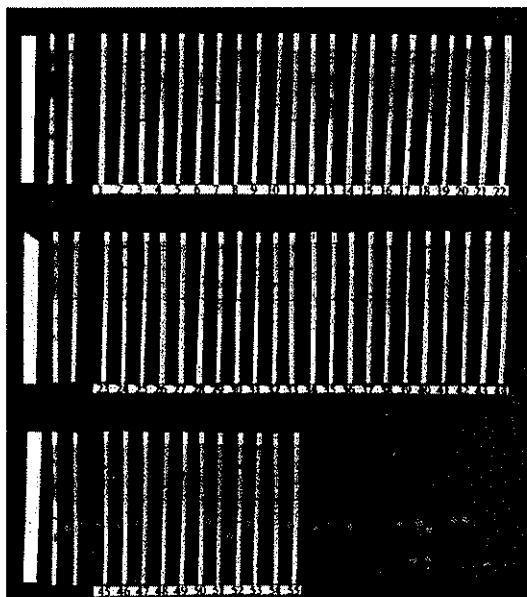


Fig. 24 Técnica para realización de ELISA

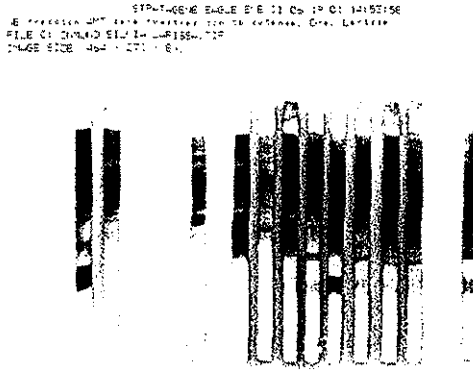


**Fig. 25 Resultados de ELISA realizados en este estudio**

**Western Blot (WB)<sup>135</sup>:**

Se parte de una mezcla antigénica que electroforéticamente es separada en el gel de poliacrilamida, después son directamente electrotransferidas a papel de nitrocelulosa que sirve como fase sólida para llevar a cabo el reconocimiento antígeno-anticuerpo. Esta reacción se hace evidente por la adición de un segundo anticuerpo marcado con una enzima y del sustrato correspondiente, cuyo producto precipita en el sitio de reacción (fig. 26). Por la complejidad de la prueba se realiza solo en laboratorios que tengan patrones definidos de antígenos que ofrezcan resultados consistentes en los diferentes laboratorios.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



**Fig. 26 Resultado de algunos estudios de WB realizados en éste estudio.**

#### 14.7 ANEXO 7 – INTRADERMORREACCION CON PPD

La intensidad de la reacción a la tuberculina (emulsiones de bacilos muertos purificadas ó PPD), nos permite la valoración indirecta de la respuesta inmunológica del huésped ante el bacilo.

Se realiza previa asepsia del tercio medio de la cara anterior de antebrazo, con la aplicación de 10 ut de PPD intradérmicamente y se leyó el resultado a las 72 horas, con la siguiente interpretación:

- De 5-10 mm + = infiltración y eritema
- De 11-15 mm ++ = pápula, eritema e infiltración
- De 16- 20 mm +++ = pápula, con mayor infiltración y eritema
- Mayor 20 mm ++++ = necrosis

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### 14.8 ANEXO 8 – BACILOSCOPIAS

La determinación de BAAR permitió la identificación de focos infecciosos en orina y en tosedores crónicos en el esputo.

Se solicitaron la recolección diaria matutina y en ayunas, de seis muestras de esputo y/o orina, en frascos estériles.

Se realizaron frotis de las muestras con fijación mediante calor y tinción con Ziehl Neelsen para su análisis microscópico y determinar la presencia o no de bacilos en las muestras.

El estudio se evalúa en cruces, siendo:

Negativo ó 0 cuando no se encuentran bacilos en 100 campos.

.+ si es < de 1 bacilo /campo en 100 campos.

.++ 1-10 bacilos/campo en 50 campos.

.+++ >10 bacilos/campo en 100 campos.

#### 14.9 ANEXO 9 – BIOPSIA

Previo asepsia y antisepsia de la región, aplicación de campos estériles, se efectuó anestesia local con xilocaína al 2% (sin epinefrina en nariz, genitales y dedos) y se realizó un huso que varió en su tamaño de acuerdo a la lesión, pero que abarcó centro y borde de la lesión, así como parte de piel sana y cuya profundidad fué hasta tejido celular subcutáneo. Se suturó con nylon de 3-0 a 5-0 de acuerdo al sitio anatómico y se cubrió con parche de gasa estéril, con indicación de cuidados generales durante al menos 1 semana, tiempo en el que se retiraron los puntos.



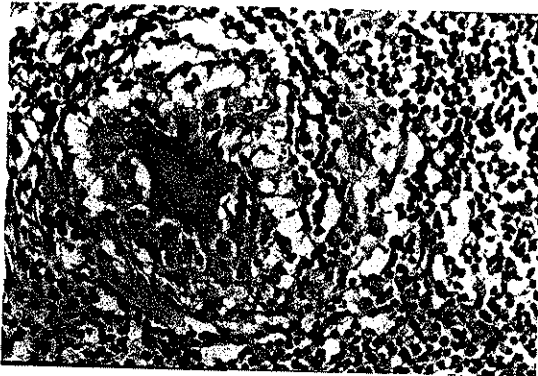
#### 14.10 ANEXO 10 – TÉCNICA PARA EL ANALISIS HISTOPATOLOGICO GENERAL

El análisis histopatológico se llevó a cabo en el Centro Dermatológico Pascua, Departamento de Dermatopatología a cargo de la Dra. Josefa Novales Santa Coloma.

Una vez fijadas la biopsias en formol al 10%, se procede a deshidratar, aclarar e incluir en parafina; el bloque obtenido se corta con microtomo y los cortes colocados en laminillas portaobjetos, se tiñen con hematoxilina-eosina (H-E) y tinciones para bacilos (Ziehl-Neelsen y Fite Faraco modificada)<sup>136</sup>.

Técnica de tinción H-E (fig. 27):

Los cortes se colocan en una canastilla y se sumergen en xileno por 3 minutos y se pasan a un segundo baño de xileno por 2-3 minutos; se colocan en alcohol etílico absoluto 2 minutos y posteriormente al 96%; se lavan con agua por 1 minuto y brevemente con agua destilada; se tiñe por 4-8 minutos con hematoxilina de alumbre, se lava con agua y decolora en alcohol ácido 1%, se enjuaga y se vira en alcohol amoniacal al 1% por 30 segundos; se enjuaga y se tiñe en eosina Y acidificada al 1% o alcohólica durante 15 segundos a 2 minutos y se enjuaga en alcohol 80%; se deshidrata en alcohol etílico absoluto y se pasa por baños de xileno, montando finalmente en resina sintética.



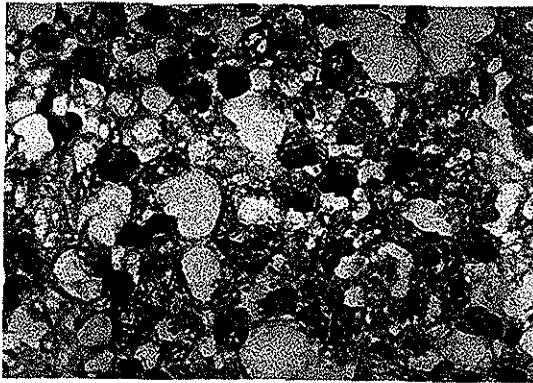
**Fig. 27 Granuloma tuberculoide tinción H-E.**

Se observan la células gigantes multinucleada tipo Langhans, rodeadas de células epitelioides, histiocitos, linfocitos y monocitos.

Técnica de tinción Ziehl-Neelsen (fig 28):

Los cortes se tratan con agua y se tiñen durante 1 hora a 37° con carbolfucsina, se enjuaga con agua, se decolora con HCl al 1% en alcohol al 70%, se lava con agua y se contrasta con azul de metileno al 1% durante 10-30 segundos, se lava, se deshidrata con alcohol al 95% y absoluto (2 veces c/u) y se aclara con xileno; finalmente se monta en resina sintética.

Los bacilos ácido-alcohol-resistentes son rojos; el citoplasma y el material caseoso es rosa, los núcleos con azulosos.



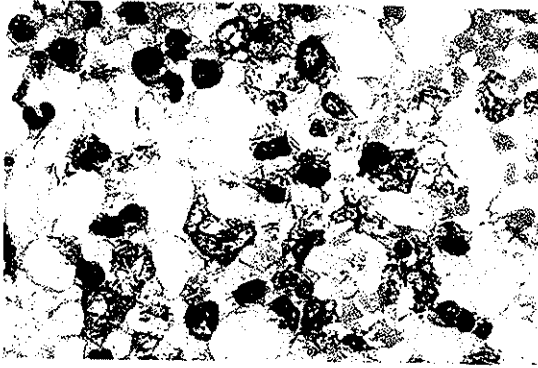
**Fig. 28 Tinción Ziehl Neelsen en biopsia pulmonar.**

**Se observan los bacilos teñidos en rojo, material caseoso y citoplasma en rosa, con núcleos azulosos; todo sobre un fondo azul.**

**Fotografía tomada de Internet**

Técnica de tinción Fite-Faraco (fig. 29):

Se desparafinan los cortes, sumergiéndolos por 1-2 minutos en 1 volumen de aceite de parafina y 2 volúmenes de trementina, se escurre y aplica papel filtro, dejando las muestras en agua. Se tiñe con carbolfucsina de Ziehl-Neelsen durante 20-30 minutos a temperatura ambiente, se enjuaga, se decolora con HCl al 1% en alcohol etílico al 70% por 1-2 minutos, se lava y se aplica azul de metileno al 0.1-0.5% por 10-20 segundos, se enjuaga con agua y se seca con papel filtro y al aire; finalmente se monta en resina sintética. Los bacilos acidorresistentes son rojos sobre fondo azul claro.



**Fig. 29 Tinción Fite Faraco**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### 14.11 ANEXO 11 – TÉCNICA PARA LA EXTRACCIÓN DE DNA Y AMPLIFICACIÓN POR PCR EN PIEL

Las determinaciones de PCR en piel permiten la identificación del material genético micobacteriano en la piel. Técnica desarrollada en el INDRE, Laboratorio de Biología Molecular, a cargo del Dr. Hiram Olivera y consiste en:

La muestra de piel puede ser tomada y colocada en solución salina para su transporte y posteriormente ser congelada para su conservación, o bien puede haber sido procesada por parafina, posterior a lo cual se toman 3-4 cortes para el análisis por PCR.

La muestra cutánea se tritura, se centrifuga durante 10 minutos a 10 000xg y el precipitado se resuspende en 500uL de un amortiguador (1mM de EDTA, 10mg/ml de lisozima, 10mM de Tris a un pH de 7.8) el cual se incuba a 37°C durante toda una noche. Se agrega proteinasa K (0.1mg/mL) y SDS (1.2%) y se incuba durante 10 min a 65°C; posteriormente se agrega cloruro de sodio (NaCl 750mM) y CTAB (35mM) obteniendo un volumen total de 750uL. Las muestras se calientan a 65°C durante 10 minutos y se les agrega un volumen igual de cloroformo; se centrifuga nuevamente durante 10 minutos a 10 000xg. Se extrae la fase acuosa y se precipita el DNA al agregar un volumen igual de isopropanolol. La esfera se recupera por centrifugación a 10 000 xg, lavando en 1ml de etanol al 70%, secando durante 10 minutos a temperatura ambiente y resuspendiendo en 20 µl de agua destilada estéril.

Para el análisis de la secuencia IS6110, se amplifica el fragmento 438bp, utilizando los "primers" IS243 (5´-gcc cgg gac cac gac cga ag-3´) y el IS660R (5´-gtt tgg tca tca gcc gtt cga c-3´) y la reacción de reversa, para generar un producto de 175bp, se realiza con los "primers" IS371 (5´-cac gtc aat tac cgg gtt cat cg-3´) y el IS427R (5´-atc gcg cag ctc gcg gcg g-3´). Se utiliza la siguiente secuencia para 25 ciclos de cada reacción: 94°C por 15" y 1´30" a 68°C.

Los productos del PCR se analizan en geles de agarosa al 2%, coloreados con etidium bromado y se observa en un transiluminador ultravioleta (fig. 30).

Para evitar contaminación, la extracción, la amplificación y la detección del ácido nucleico, se realizan en distintos laboratorios. Los controles negativos y positivos se extraen y amplifican en cada grupo de muestras examinadas. Los resultados falsos positivos no se obtienen con los controles negativos.

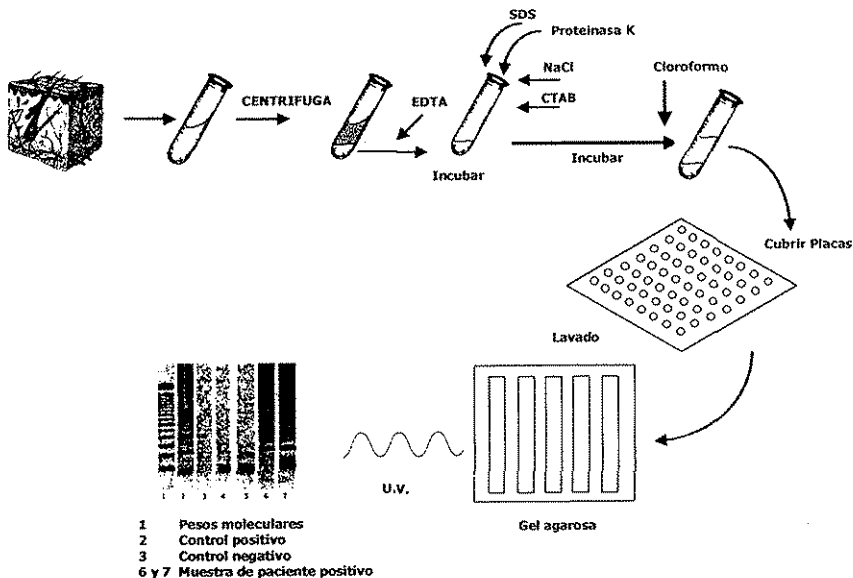


Fig. 30 Técnica para la realización de la PCR.

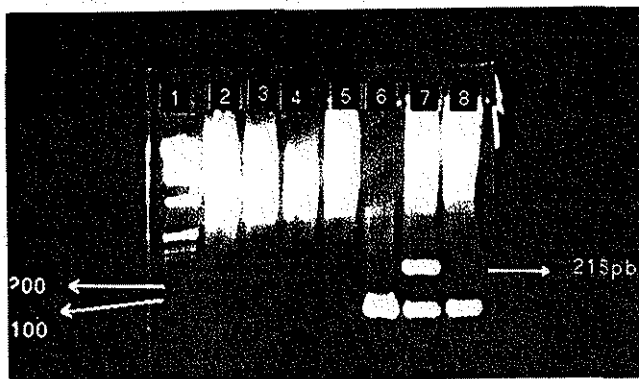


Fig. 31 Resultado de PCR.

En la hilera 8, la banda de 215 pb, muestra el peso molecular de *M. tuberculosis*.

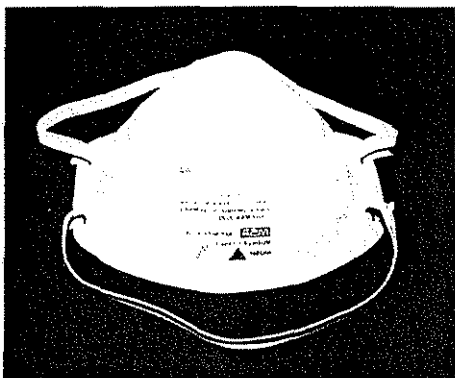
#### 14.12 ANEXO 12 - TECNICA PARA EL CULTIVO DE MUESTRAS EN MEDIO LOWENSTEIN JENSSEN

Técnica desarrollada InDRE, Laboratorio de Micobacterias, a cargo de la QFB Susana Balandrano, consiste en:

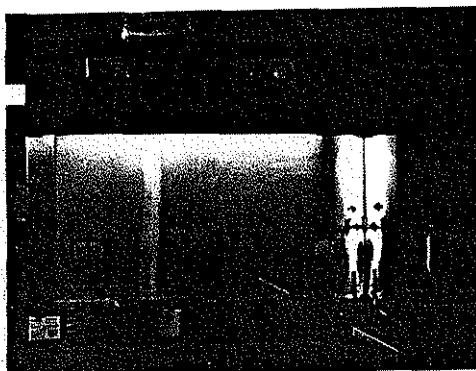
Se recibe la muestra de piel inmersa en solución salina a temperatura ambiente; se coloca en un mortero y se muele agregándole hidróxido de sodio (1:1) y se agita en un vortex durante 20 segundos; se somete a incubación a 37° durante 15 minutos y se centrifuga a 3000 gs (gravidades) a 3700 RPM (revoluciones por minuto); se decanta el sobrenadante y de inmediato se neutraliza con hipoclorito a 1N (normal) y se procede a la inoculación en los medios de cultivo Lowenstein Jensen y Stone-Brike a 0.3 ml (5 gotas).

Se colocan los medios en una incubadora a 37° y se revisan periódicamente durante por lo menos 1 mes, posterior a lo cual se espera haya crecimiento de las colonias. En los casos positivos (crecimiento de colonias), se procede a realizar tipificación con pruebas bioquímicas (pruebas de catalasa a 37°C y 68°C, prueba de niacina y de nitratos a nitritos) (figs. 32-35).

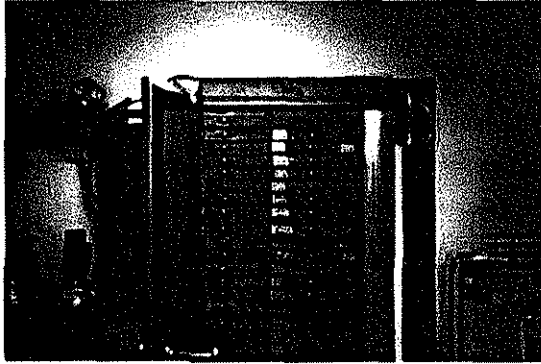
Para determinar sensibilidad de la bacteria a los antitímicos (isoniazida, rifampicina, etambutol, pirazinamida), se colocan en medio Bactec; asimismo se realizan resiembras y determinación de sensibilidad, en medio agar enriquecido con Middlebrok.



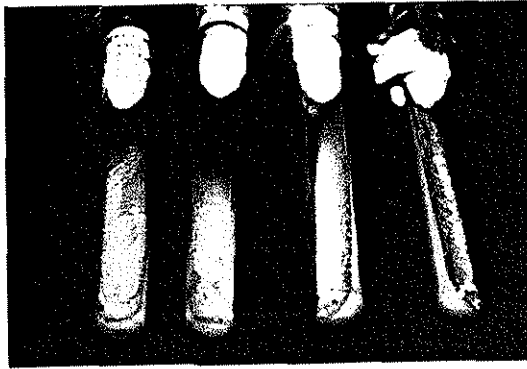
**Fig. 32** Tipo de mascarillas usadas para el manejo de muestras sospechosas de Tb



**Fig. 33** Campana de flujo para evitar contaminación al procesar las muestras.



**Fig. 34 Incubadora para muestras sospechosas de tuberculosis.**



**Fig. 33 Cultivos positivos de *M. tuberculosis*. Medios de cultivo Lowenstein Jensen y Stone Brike.**

Se observan colonias pequeñas, blanco-amarillentas, cremosas.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 15. REFERENCIAS

1. Fernández de Castro J. Tuberculosis. Perspectivas en México. Rev Inst Nal Enf Resp Mex 1990;3:55-61.
2. Glassroth J. Diagnosis of tuberculosis. Cap.8 p.p. 149-165; del libro Reichman & Hershfield. Tuberculosis. A comprehensive international approach. Marcel Dekker 1993.
3. Rodríguez P. Tuberculosis cutánea en el Centro Dermatológico Pascua, frecuencia y correlación clínico-patológica en 15 años (1986-2000). Tesis de Postgrado en Dermatología, UNAM, México D.F., 2001.
4. Zuñiga Ahuet Guillermo. Tuberculosis nodular profunda (Eritema Indurado de Bazin) la reacción en cadena de la polimerasa para su diagnóstico etiológico. UNAM, México 1996.
5. Maldonado Bernal Ma. Del Carmen. Tuberculosis cutánea, la biología molecular en la etiología de las tuberculides. Tesis CMN S XXI, México 1998.
6. Izumi AK, Matsunaga J, BCG vaccine induced lupus vulgaris. Arch Dermatol 1982;118:171-172.
7. Ostrowsky A, Sagher F. Dermatological complications of BCG vaccination. Br J Dermatol 1963; 75: 180-190.
8. Schollossberg D. Tuberculosis and nontuberculous Mycobacterial infections. 4º ed. W.B. Saunders Company 1999. 3.
9. Beutner EH. Tuberculosis of the skin: historical perspectives on tuberculin and Bacille Calmette Guérin. Int J Dermatol 1997;36:73-77.
10. Sehgal VN, Wagh SA. The history of cutaneous tuberculosis. Int J Dermatol 1990;29: 666-668.
11. Fariña MC, Escalonilla P, Soriano ML, et al. Tuberculosis cutáneas, Actualización clínico-patológica y terapéutica. Actas Dermosifilogr 1996;87:509-519.
12. Trujillo H. El centenario del descubrimiento de Koch. Ant Med Medellín (Col) 1982;31:97-8.
13. Sierra X. Historia de la tuberculosis cutánea. Piel 1996;10:118-26.
14. Yáñez A. La tuberculosis: "Historia antigua, problema actual", Rev Salud Púb de Mex 1982; mayo-junio vol XXIV (3) época VI: 237-257.



15. Diario Oficial de la Federación. Jueves 26 de Enero de 1995. 1ª sección.
16. Secretaría de Salud, Subsecretaría de prevención y control de enfermedades. Revisión de la Norma oficial Mexicana NOM-006-SSA2-1993, para la prevención y control de la tuberculosis en atención primaria a la salud. México 1998.
17. The global challenge of tuberculosis . Lancet 1994;344:277.
18. Van Embden J, Cave KD, Crawford J, et al. Strain identification of Mycobacterium tuberculosis by DNA fingerprint: recomendations for a standarized methodology. J Clin Microbiol;31:406-409.
19. Safi H, Aznar J & Palomares JC. Molecular epidemiology of Mycobacterium tuberculosis strains isolated during a 3 year period (1993-1995) in Seville, Spain. J Clin Microbiol 1997;35:2472-2476.
20. Amezquita R. Tuberculosis cutánea, aspectos clínicos y epidemiológicos en México. Tesis, UNAM 1963.
21. Saul A. Lecciones de Dermatología. Dermatosis bacterianas 13ª ed. Ed. Méndez 1993:72-85.
22. Escalona E, Estrada C. Tuberculosis cutánea en México. Rev. El Médico, Julio 1992.
23. Aceves Ortega R. Tuberculosis cutánea. Med Cutan Iber Lat Am 1972;3:179-192.
24. Parra García M. Tuberculosis cutánea, estadística 1964-1981, CDP. Tesis de postgrado en Dermatología, UNAM, México D:F. 1982.
25. Padilla M. Tuberculosis cutánea en el Centro Dermartológico Pascua. Correlación clínico-patológica 1982-1987. Tesis de Postgrado en Dermatología, UNAM, México D.F., 1982.
26. Ramesh V, Misra RS, Jain RR. Secondary tuberculosis of the skin . Int J Dermatol 1987;26:578-581.
27. Marcoval Caus J. Tuberculosis cutánea. Piel 1991;6:330-338.
28. Ichiki Y, Hirose M, Akiyama T, et al. Skin infection caused by Mycobacterium avium. Br J Dermatol 1997;136:260-263.
29. Wayne I. Microbiology of tubercle bacilli. Am Rev Resp Dis 1982;125:31-41.
30. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and Mollecular Immunology 2º ed. Philadelphia Saunders, 1994. pag. 760-761.
31. Identificada molécula de membrana responsable de la virulencia de Micobacterium tuberculosis en pulmón. (Internet)Iladiba.com. Nov 1999.

32. Rich A. The pathogenesis of tuberculosis. 2º ed. Charles Thomas Publisher 1951.
33. Cooper AM, Flynn J. The protective Immune response to Mycobacterium tuberculosis. *Curr Opin Immunol* 1995;7:512-16.
34. Frehel C, De Chastellier C, Lang T, et al. Evidence for inhibition of fusion of lysosomal and pre-lysosomal compartments with phagosomes in macrophages infected with pathogenic Mycobacterium avium. *Infect Immun* 1986;52:252-262.
35. CMCR. Tuberculosis and Chest diseases unit. *Br Med J* 1980;21:893.
36. Chávez FR, Báez R, Montañó LF, et al. Respuesta inmune en la tuberculosis. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 1997;10:195-202.
37. Torres JL. Panorama de la Tuberculosis. *Bol Epidemiología* 1995;12:1-2.
38. Rook A, Wilkinson DS, Ebling FJG, et al. Tratado de Dermatología. 4º ed. Edit. Doyma. Barcelona, España 1988. Capítulo 22 Savin JA & Wilkinson DS. Infecciones por micobacterias, incluyendo la tuberculosis: 877-903.
39. Esquema tomado de Brostoff J, Scadding G, Mole D y Roitt I. Inmunología clínica. Mosby/Doyma libros 1994; cap 12 Enfermedades respiratorias, p.p. 12-13 fig 12.23.
40. Harris A, Burge S, Williams S, et al. Cutaneous tuberculous abscess: a management problem. *Br J Dermatol* 1996;135:457-459.
41. Stringa SG, Bianchi C, Zingale SB: Nodular vasculitis immunofluorescent study: 7S gamma-globulin and complement (beta-1-c-globulin) in the lesions of nodular vasculitis. *J Invest Dermatol* 1966;46:1-5.
42. Parish WE, Rhodes EL. Bacterial antigens and aggregated gamma globulin in the lesions of nodular vasculitis. *Br J Dermatol* 1967;79:131-47.
43. Daniel TM. Circulating immune complexes in tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1986;134:199-200.
44. Wortman P. Pulmonary and cutaneous tuberculosis. *J Am Acad Dermatol* 1992;27:459-60.
45. Fernández del Moral R, Ereño C, Arrinda JM, et al. Erythema induratum of Bazin and active renal tuberculosis. *J Am Acad Dermatol* 1994;31:288-90.
46. American Thoracic Society and the Centers for Disease Control. Treatment of tuberculosis and tuberculosis infection in adults and children. *Am Rev Respir Dis* 1986;134:355-63.
47. Schein. *Arch Dermatol* 1972: 105-244.

48. Mut J, Varela J, Alvarez J, et al. Tuberculosis cutánea. A propósito de un caso. *Actas Dermo-sif* 1994;85:346-48.
49. Chong LY & Lo KK. Cutaneous tuberculosis in Hong Kong: a 10 year retrospective study. *Int J Dermatol* 1995;34:26-29.
50. De Riemer K, Chin DP, Schechter GF, Reingold AL. Tuberculosis among immigrants and refugees, *Arch Inter Med* 1988;158:605-609.
51. Byet F, Ordbalds DW, Santa Cruz DJ, et al. Cutaneous mycobacteriosis: analysis of 34 cases with a new classification of the disease. *Medicine* 1980;60:95-109.
52. Ullah K & Fritsch P. Cutaneous tuberculosis. *Int J Dermatol* 1989;28: 355-361.
53. Escalona E. *Dermatología. Impresiones Modernas*, México 1971:116-128.
54. Estrada C. Tuberculosis de la piel. Tesis de postgrado en Dermatología UNAM, 1943.
55. Kuramoto Y, Aiba S & Tagami H. Erythema induratum of Bazin as a type of tuberculid. *J Am Acad Dermatol* 1990;22:612-616.
56. Sehglia V & Wagh S. Cutaneous tuberculosis. Current concepts. *Int J Dermatol* 1990;29: 237-252.
57. Rodríguez O. Tuberculosis cutánea. *Rev Centr Dermatolog Pascua* 1993;2: 53- 64.
58. Rodríguez O. Tuberculosis diseminadas. *Rev Centro Dermatol Pascua* 1994;3: 6-14.
59. Panzarelli A. Tuberculosis cutis orificialis. *Int J Dermatol* 1996;35:443-444.
60. Gorodesky C. El complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) en el ser humano. El complejo HLA. En Rodríguez R, editor. *Reumatología pediátrica*. México D. F., Interamericana. Mc Graw Hill, 1991.
61. Lenzini L, Rottoli P, Rottoli L. The spectrum of human tuberculosis. *Clin Exp Immunol* 1977;27:230-37.
62. Michalowski R & Lésna P. Mast cells in skin tuberculosis. *Int J Dermatol* 1996;35:606.
63. T Dam H.G. BCG vaccination. Cap.13 p.p. 251-274; del libro Reichman & Hershfield. *Tuberculosis. A comprehensive international approach*. Marcel Dekker 1993.
64. Goette DK, Kraig C, Doty MR. Primary inoculation tuberculosis of the skin. *Arch Dermatol* 1978;114:567-569.

65. Muñoz J, Macias A, Hernández I, Durán E, et al. Comparative tuberculin reactivity to two protein derivatives. *Rev Invest Clin* 1996;48:377-381.
66. Huebner R, Schein M & Bass J. The tuberculin skin test. *Clin Infect Dis* 1993;17:968-975.
67. Bass J. The tuberculin test.. Cap.7 p.p. 139-148; del libro Reichman & Hershfield. *Tuberculosis. A comprehensive international approach.* Marcel Dekker 1993.
68. Galankis E. Fever of unknown origin. *Lancet* 1997; 350: 1401.
69. OMS Tuberculosis and global strategy. *Int J Dermatol* 1995;34:442.
70. Wortman P. Pulmonary and cutaneous tuberculosis. *J Am Acad Dermatol* 1992; 27: 459-60
71. Paul MA, Williford PM: Cutaneous tuberculosis in a child: case report and review. *Pediatr Dermatol* 1996; 13: 386-88.
72. Freedberg I, Eisen AZ, Wolff K, et al. Fitzpatrick's. *Dermatology in General Medicine.* USA: Mc Graw Hill, 1999: 2274 - 88.
73. Nolte FS, Metchock B. *Mycobacterium .de* : Muernay PR, Baron EJ, Pfaller MA, et al. *Manual of Clinical Microbiology* 6º ed. Washington DC, ASM Press 1995. P-400.
74. Savić B, Sjöbring U, Alugupalli S, et al. Evaluation of polymerase chain reaction, tuberculostearic acid analysis, and direct microscopy for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum. *JID* 1992; 166:1177-1180.
75. Ramesh V, Misra RS, Beena KR & Mukherjee A. A study of cutaneous tuberculosis in children. *Pediatric Dermatol* 1999;16:264-269.
76. Tholcken CA, Huang S & Woods G. Evaluation of the ESP culture system II for recovery of *Mycobacteria* from blood specimens collected in isolator tubes. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2681-2.
77. Reiken S, Van Wie B, Sutisna H, Kurdikar D, et al. Efficient optimization of ELISAs. *J Immunol Methods* 1994;177:199-206.
78. Escobar- Gutiérrez A, Amescua ME, Pasten S, et al. Enzyme -linked immunosorbent assay (ELISA) with mycobacterial crude antigens for the ser(epidemiological diagnosis of active tuberculosis. *Int J Leprosy* 1995;64:417-427.
79. Arvilommi H. ELISPOT for detecting antibody-secreting cells in response to infections and vaccination. *APMIS* 1996; 104: 401-410.

80. Chiang I, Suo J, Bai KJ, et al. Serodiagnosis of tuberculosis. A study comparing three specific mycobacterial antigens. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 906-11.
81. Julián E, Matas L, Ausina V & Luquin M. Detection of lipoarabinomannan antibodies in patients with newly acquired tuberculosis and patients with relapse tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2663-4.
82. Serfling U, Penéis NS and Leonardi CL. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in a case of lupus vulgaris. *J AM Acad Dermatol* 1993;28: 318-322.
83. Steidl m, Neubert U, Volkenandt M, et al. Lupus vulgaris confirmed by polymerase chain reaction. *Br J Dermatol* 1993; 129: 314-318.
84. Schenider JW, Geiger DH, Rossouw DJ, et al. Erythema induratum of Bazin. A clinicopathological study of 20 cases and detection of *Mycobacterium tuberculosis* DNA
85. Deglitz K, Steidl M, Thomas P, et al. Etiology of tuberculids. *Lancet* 1993;341:239-240.
86. Yen A, Rady PL, Cortes-Franco R & Tying SK. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in erythema induratum of Bazin using polymerase chain reaction. *Arch Dermatol* 1997;133: 532-533.
87. Chuang YH, Kuo TT, Wang CM, et al. Simultaneous occurrence of papulonecrotic tuberculids and erythema induratum and the identification of *Mycobacterium tuberculosis* DNA by polymerase chain reaction. *Br J Dermatol* 1997;137: 276-281.
88. García del Moral R. Laboratorio de anatomía patológica. Interamericana – Mc Graw Hill, 1º ed pags. 283-285.
89. Martin-Casabona, Xairó D, González T, et al. Rapid method for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* by using DNA probes. *J Clin Microbiol* 1997;35(10): 2521-2525.
90. Hoon TS, Huan TB, Leok GCh, et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* DNA using polymerase chain reaction in cutaneous tuberculosis and tuberculids. *Int J Dermatol* 1999;38:122-127.
91. Brisson- Noel A, Aznar C, Chureau C, et al. Diagnosis of tuberculosis by DNA amplification in clinical practice evaluation. *Lancet* 1991; 338: 364-366.

92. Degitz K. Detection of Mycobacterial DNA in the Skin. Etiologic insights and Diagnostic perspectives. *Arch Dermatol* 1996;132: 71-75.
93. Nachbar F, Classen V, Nachbar T, et al. Orificial tuberculosis: detection by polymerase chain reaction. *Br J Dermatol* 1996; 135: 106-9.
94. Margall N, Baselga E, Col P, et. Al. Detection of Mycobacterium tuberculosis complex DNA by the polymerase chain reaction for rapid diagnosis of cutaneous tuberculosis. *Br J Dermatol* 1996, 135:231-6.
95. Goiham- Yahr M: Active cutaneous tuberculosis after therapy of squamos cell carcinoma of the skin, a PCR study. *Int J Dermatol* 1996;35(3):220-1.
96. Sabor SA, Jonson NM, Mc Fadden J. Detection of mycobacterial DNA in sarcoidosis and tuberculosis with polymerase chain reaction . *Lancet* 1992;339:1012- 1015.
97. Naimark H, Baig MA & Carleton S. Direct identification and typing of mycobacterium tuberculosis by PCR. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2454-2459.
98. Faizal M, Jimenez G, Burgos C, et al. Diagnosis of cutaneous tuberculosis by polymerase chain reaction using a species- specific gene. *Int J Dermatol* 1996; 35: 185-8.
99. Del Portillo P, Murillo LA & Patarrollo ME. Amplification of a species-specific DNA fragment of Mycobacterium tuberculosis and its possible use in diagnosis. *J Clin Microbiol* 1991;29: 2163-2168.
100. Hellyer TJ, DesJardin LE, Assaf MK, et al. Specificity of IS6110-based amplification assays for Mycobacterium tuberculosis complex. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2843-2846.
101. Chander A, Yadava R, Ghosh S, Rath PC, Yadava PK, et al. Strain Differentiation among Indian clinical isolates of M. tuberculosis by RFPL analysis. *Mol Biol Today* 2000;1:53-55.
102. Serfling U, Penneys N & Leonardi C. Identification of Mycobacterium tuberculosis DNA in a case of lupus vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28:318-322.
103. Brison-Noel A, Gicquel B, Lecoisser D, et al. Rapid diagnosis of tuberculosis by amplification of mycobacterial DNA in clinical samples. *Lancet* 1989; 2 : 1069-1071.

104. De Wit D, Steyn L, Shoemaker S & Sogin M. Detection of Mycobacterium, tuberculosis in clinical specimens by DNA amplification. *J Clin Microbiol* 1990;28: 2437-2441.
105. Cegielski JP, Bevin BH, Morris A, et al. Comparison of PCR, culture and histopathology for diagnosis of tuberculous pericarditis. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3254-3257.
106. Viaspolder F, Singer P & Roggeveen C. Diagnostic value of amplification method (gen-probe) compared with that of culture for diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2699-2703.
107. Corsello B. New Approach to treatment of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis. Possible ramifications of cutaneous mycobacterial infections. *Int J Dermatol* 1987;26:185-189.
108. Hafner R, Cohn JA, Wright DJ, et al. Early bactericidal activity of isoniazid in pulmonary tuberculosis. Optimization of methodology. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156:918-23.
109. Donald PR, Sirgel FA, Botha FJ, et al. The early bactericidal activity of isoniazid related to its dose size in pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:895-900.
110. Holdiness M. Adverse cutaneous reactions to antituberculous Drugs. *Int j Dermatol* 1985; 24: 280-286.
111. Marcoval J, Servitje O, Moreno A, et al. Lupus vulgaris. Clinical, histopathologic and bacteriologic study of 10 cases. *J Am Acad Dermatol* 1992; 26: 404-407.
112. Latapi F, Escalona E, Rodríguez O, et al. Isoniazid (isonicotinic acid hydrazide) in skin tuberculosis. Preliminary report of sixteen cases. *Arch Dermatol & Syphiolol* 1954;69:678-682.
113. Tsankov N & Kamarashev J. Rifampin in Dermatology. *Int J Dermatol* 1993;32:401-406.
114. Skolnick J, Stoler B, Katz D & Anderson W. Rifampin, oral contraceptives and pregnancy. *JAMA* 1976;236: 1382-1383.
115. Pacheco C, Vargas M, Yáñez del Villar A, Pico L, et al. Tratamiento de la tuberculosis. Guía para el médico general. Folleto Secretaría de Salud 1991.

116. Brandli o, Hagi V, Villiger B, Bohn W, et al. Short course chemotherapy for pulmonary tuberculosis with a fixed combination of rifampicin, isoniazid and pyrazinamide (rifater). *Rev Am Resp Dis* 1987;135:A 137.
117. Grosset J. El valor esterilizante de la rifampicina y pirazinamida en la quimioterapia experimental de corta duración. *Bol Unión Internacional Tuberculosis* 1978;53:5-12.
118. Pablos.Mendez A, Raviglione MC, Laszlo A, et al. Global surveillance of antituberculosis-drug resistance ,1994-1997. World Health Organization-International Union against Tuberculosis and Lung Disease Working Group on Antituberculosis Drug Resistance Surveillance . *N En Med* 1998;338:1641-9.
119. Acosta R, Acosta P, Anzaldo G, et al.Population-based survey for drug resistance of tuberculosis-México,1997. *JAMA* 1998;280:14-115.
120. Farmer P,Bayoma J, Becerra M, et al. The dilemma of MDR-Tb in the global era. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2:869-76.
121. Rattan A, Kalia A, Ahmad N. Multidrug resitant mycobacterium tuberculosis:molecular perspectives. *Emerg Infect Dis* 1998;4:195-209.
122. Ponce de León A. Resistencia a antimicrobianos en tuberculosis: mecanismos y opciones terapéuticas. *Rev Invest Clín* 2000;52:72-79.
123. Lipsitch M, Levin BR. Population dynamics of tuberculosis treatment:mathematical models of the roles of non-compliance and bacterial heterogeneity in the evolution of drug resistance. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2:187-99.
124. Dirgel FA, Botha FJ, Parkin DP, et al. The early bactericidal activity of ciprofloxacin in patients with pulmonary tuberculosis.*Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:901-905.
125. Condos R, Rom WN & Schulger NW. Treatment of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis with interferon gamma via aerosol. *Lancet* 1997;349:1513-1515.
126. Schulz EJ & Whiting DA. Treatment of erythema nodosum and nodular vasculitis with potassium iodide. *Br J Dermatol* 1976;94:75-78.
127. López de Maturana D, Wagemann E, Amaro P, et al. Tratamiento antituberculosos en el eritema indurado. *Piel* 1996;11:294-296.



128. Alvarez A, Escobar A, Amezcua ME, Lara E & Salgado J. Demonstration of acid-fast bacilli in skin biopsies from indeterminate leprosy cases. *Transact Roy Soc of Trop Med Hyg* 1988;82:492-494.
129. Departamento de Investigaciones Inmunológicas InDRE. Informe sobre evaluación de la eficiencia diagnóstica de un equipo inmunocromatográfico para el diagnóstico de la tuberculosis. México 2000.
130. Kox LF, Rienthong AM, Miranda M, et al. A more reliable PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 672-678.
131. Afghani B & Stutman H. *J Invest Dis* 1995; 172: 903-4.
132. Fredericks D & Relman D. Application of polymerase chain reaction to the diagnosis of Infectious diseases. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 475-488.
133. Shibata D, Martín WJ and Arnheim N. Analysis of DNA sequences in forty year old paraffin embedded thin tissue sections: a bridge between molecular biology and classical histology. *Cancer Res* 1988;48:4564-4566.
134. Ben-Ezra J, Jonson DA, Rossi J, et al. Effect of fixation on the amplification of nucleic acids from paraffin-embedded material by the polymerase chain reaction . *J Histochem Cytochem* 1991;39: 351-354.
135. Towbin H, Staehelin T. Electrophoretic transfer of protein from polyacrilamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some aplicaciones. *Proc Natl Acad Sci* 1979;76: 4350-4354.
136. Lynch M, Raphael S, Mellor L, Spare P, Inwood M. *Métodos de laboratorio, Interamericana* 1977, 2a edición, vol. 1 pags. 1152,1153 y 1251-1254.