

11262



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO SSA

DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS MILIAR POR REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) EN EL ASPIRADO DE MEDULA OSEA

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS
P R E S E N T A
DRA. LAURA E. ESCOBEDO JAIMES
Elena

TUTOR: DR. RAUL CICERO SABIDO
SERVICIO DE NEUMOLOGIA DEL HOSPITAL GENERAL DE MEXICO

CO-TUTOR: DR. ALEJANDRO ESCOBAR
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGIA DEL INSTITUTO NACIONAL DE DIAGNOSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLOGICA



MEXICO, D. F.

2005



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

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

NOMBRE: Laura Escobedo

JAIMES

FECHA: 28 Sept 2005

FIRMA: [Firma]

Hay una enfermedad espantosa que prepara a su víctima como si fuera para morir... una terrible enfermedad en que la disputa entre el alma y el cuerpo es gradual, silenciosa y solemne y que resulta tan infalible que día a día y paso a paso la parte mortal se consume y empalidece así como el espíritu crece... una enfermedad en que la muerte y la vida se encuentran tan extrañamente mezcladas que la muerte es el halo y la faz de la vida, mientras la vida, la famélica y terrible forma de la muerte, una enfermedad que la medicina nunca ha curado, inmune a la riqueza y a la que la pobreza podría creer que estaba exenta, que a veces avanza a pasos agigantados y en otras ocasiones progresa en forma lenta y pausada pero, lenta o rápida, siempre infalible e inexpugnable.

Charles Dickens
Nicholas Nickleby

DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS MILIAR POR REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) EN EL ASPIRADO DE MEDULA OSEA

Este trabajo fue realizado en las instalaciones del Hospital General de México, en el Servicio de Neumología bajo la tutoría del Dr. Raúl Cicero Sabido, con apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

Los estudios de biología molecular fueron realizados en el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica con la invaluable ayuda del Dr. Alejandro Escobar y el Dr. Hiram Olivera.

Las tomografías de alta resolución fueron realizadas en el CT. Scanner Unidad Puebla con la brillante contribución del Dr. José Luis Criaes

AGRADECIMIENTOS

A MIS PROFESORES

A los doctores y profesores del Hospital General de México y del Centro Médico Siglo XXI, que a lo largo de mi carrera, de la especialidad y la maestría han contribuido a mi formación académica, al Dr. Juan Garduño por sus enseñanzas.

A MI MAESTRO el Dr. Raúl Cicero, que participó de forma fundamental en este trabajo y en mi formación académica, por ser alguien imprescindible, por sus consejos, por su confianza, por el apoyo y por su cariño.

Al Dr. Alejandro Escobar que creyó en nuestras ideas y que gracias a su colaboración se hizo posible la realización de este trabajo.

A los químicos y médicos del INDRE por su profesionalismo sobre todo al Dr. Hiram Olivera, a Silvia González y Verónica Rivero.

A los químicos del Hospital General, al QFB Salinas y a Heleodora González por contribuir con su experiencia y trabajo cotidiano en todos nuestros proyectos.

Al Dr. José Luis Criales por su gran calidad humana y por su ayuda tan entusiasta.

Al Dr. Eduardo Islas del servicio de Hematología por su colaboración y permitirnos estudiar a sus enfermos.

A mis amigos John, Paulo, Adolfo, Rosa, Ana María, Irma, Blanca, Angélica, Minerva y Gabriela, que me enriquecen el camino.

A la Dra. Martínez Kuri, de la UNAM, gracias por insistir.

Al antiguo Comité de Investigación del Hospital General de México por permitirme aprender y trabajar con ellos.

Al Dr. Octavio Amancio por sus comentarios que mejoraron en gran medida este trabajo.

Al comité revisor conformado por el Dr. Sergio Cuevas, el Dr. Juan Garduño, Dr. Raúl Cicero Sabido, Dr. Fabio Salamanca y Dr. Edgar Zenteno.

A todos los enfermos que participaron en este proyecto y lo hicieron posible.

DEDICATORIAS

A MI FAMILIA

(Guicho, Eloy, Ana, Luis, Pablo, Ricardo y Erika)

Que me hizo salir adelante en tiempos adversos, por esa gran fortaleza que me cobija en los momentos precisos, por contribuir y formar a la mujer que soy ahora, yo los llevó en mi corazón a donde quiera que voy

A Daniel

*El corazón es el centro
que se dispersa en prismas
para formar una estrella,
de cuya dorada luz nace
el gran valor de la vida.
Esa estrella es el amor...
Y eres tú, quien la ilumina.
Dentro de mí estarás
Y en mi corazón vivirás, siempre.*

CONTENIDO

	Página
Índice de Figuras	i
Índice de Tablas	ii
Resumen	iii
CAPITULO I	
ANTECEDENTES	
Epidemiología	1
1.1 Tuberculosis Miliar	2
1.1.1 Patogenia	2
1.1.2 Factores de riesgo	4
1.1.3 Cuadro clínico y espectro de la enfermedad	5
1.1.4 Exámenes de laboratorio	6
1.1.5 Características radiográficas	7
1.1.6 Características topográficas	8
1.1.7 Anatomía Patológica	9
1.1.8 Tratamiento	10
1.2 Métodos diagnósticos	11
1.2.1 Tinción de Ziehl-Neelsen	12
1.2.2 Aspirado de médula ósea	13
1.2.3 Reacción en cadena de la polimerasa	13

	Página
CAPITULO II	
2.1 Justificación	14
2.2 Planteamiento del problema	14
2.3 Hipótesis	14
2.4 Objetivos	15
2.5 Material y procedimiento	15
2.5.1 Descripción general del estudio	15
2.5.2 Criterios de Selección	16
2.5.3 Consideraciones éticas	18
2.5.4 Tamaño de la muestra	18
2.5.5 Definición conceptual	19
2.5.6 Definición operacional	19
2.5.7 Estándar de oro	19
2.5.8 Procedimiento	20
2.5.8.1 Prueba cutánea con tuberculina	20
2.5.8.2 Tinción de Ziehl-Neelsen	20
2.5.8.3 Cultivo en medio de Lowestein- Jensen	21
2.5.8.4 Aspirado de Médula ósea	22
2.5.8.5 Reacción en cadena de la polimerasa	22
2.5.8.6 Tomografía de Alta Resolución	23
2.6 Análisis estadístico	23

	Página
CAPITULO III	
RESULTADOS	24
CAPITULO IV	
DISCUSION	38
CAPITULO V	
CONCLUSIONES	42
REFERENCIAS	44

INDICE DE FIGURAS

	PAGINA
Figura 1. Vista macroscópica de un pulmón con tuberculosis Miliar	9
Figura 2. Tubérculos coroideos	26
Figura 3. Tuberculosis cutánea colicuativa	27
Figura 4. Célula gigante multinucleada	28
Figura 5 y 6. Radiografía de tórax con tuberculosis miliar	32
Figura 7. Radiografía de tórax con diseminación mixta	33
Figura 8 y 9 TAC de alta resolución con patrón miliar	34
Figura 10. TAC de alta resolución con patrón de árbol en yema	35
Figura 11 y 12. Paciente con tuberculosis miliar con afección Ganglionar	36
Figura 13. Reacción en cadena de la polimerasa	36

INDICE DE TABLAS

	PAGINA
Tabla I	3
Tabla II	10
Tabla III	17
Tabla IV	29
Tabla V	30
Tabla VI	32

RESUMEN

La tuberculosis (Tb) se considera por la Organización Mundial de la Salud (OMS) una emergencia mundial. La tuberculosis miliar (TbM) es una de las formas clínicas más graves, por su alta morbi-mortalidad y su dificultad diagnóstica, se define como una diseminación hematogena producida por la erosión de un vaso sanguíneo, con el vaciamiento en él de contenido caseoso con *M. tuberculosis*, desde cualquier foco tuberculoso previo del organismo, lo que determina una siembra de pequeños granulomas miliares que en la radiografía de tórax se ven como un infiltrado difuso micronodular bilateral. La comprobación bacteriológica es difícil por la escasa carga bacilar, tanto en expectoración como en los tejidos afectados. Por lo que surgió la idea de implementar un método diagnóstico que fuera rápido y menos invasivo como es el aspirado de médula ósea (MO) y con la ayuda de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) poder identificar la presencia de los bacilos en los tejidos.

OBJETIVO: Determinar la utilidad de la PCR como prueba diagnóstica en el aspirado de MO, en la TbM

MATERIAL Y METODOS: Tipo de estudio: Validación de pruebas diagnósticas. Realizado en el Hospital General de México, que es un centro académico de tercer nivel de referencia nacional para enfermedades respiratorias. Muestra: Pacientes mayores de 15 años, con dos o más de los siguientes síntomas: tos, expectoración, hipertermia, disnea, pérdida de peso, además con una radiografía con patrón miliar, no se incluyeron pacientes que ya estuvieran en tratamiento antituberculoso, ni VIH positivos. Se usó un grupo control de enfermos hematológicos a quienes dentro de su protocolo de estudio se les realiza aspirado de médula ósea.

El estándar de oro fue: La Tinción de Ziehl-Neelsen ó cultivo de Lowestein-Jensen positivos en expectoración ó en otros sitios afectados más respuesta terapéutica.

A todos los pacientes se les elaboró historia clínica, radiografía de tórax, PPD, Ziehl-Neelsen y Lowestein-Jensen en expectoración, orina y en otros sitios afectados, como líquido pleural, líquido cefalorraquídeo, ganglio, a todos se les realizó aspirado de MO, en el cual se buscaron hallazgos histopatológicos compatibles con Tb, Ziehl-Neelsen, Lowestein y PCR

RESULTADOS: Se estudiaron un total de 30 pacientes con TbM, la tinción de Ziehl-Neelsen y el Lowestein en la médula ósea fueron positivos en un caso, con una sensibilidad del 3%, los hallazgos histológicos en la MO fueron positivos en 4 casos de TbM, con una sensibilidad del 13.3%, la PCR fue positiva en 21 de los 30 pacientes con TbM con una sensibilidad del 70% y una especificidad del 73%, valor predictivo positivo (VPP) 70%, valor predictivo negativo (VPN) 84%. En el grupo de pacientes hematológicos se reportó la PCR positiva en 8 casos.

Conclusión: La PCR en el aspirado de MO es una prueba útil para el diagnóstico oportuno de la TbM y esta indicada particularmente cuando los métodos bacteriológicos son negativos y la sospecha clínica de TbM es evidente

Capítulo I

ANTECEDENTES

Epidemiología

La tuberculosis (Tb) es un serio problema de salud pública, que ha resurgido en los últimos años, a causa de diversos factores, como la aparición de cepas resistentes a los fármacos por el mal uso de los esquemas de tratamiento, el aumento de la esperanza de vida y con ello de las enfermedades crónico degenerativas, los movimientos migratorios, la mayor pobreza de los países en desarrollo y la pandemia del SIDA. El VIH-SIDA ha aumentado el número de pacientes con Tb, un 20 a 30% de los pacientes infectados con VIH, presentan alguna forma de Tb durante la evolución de la inmunodeficiencia.

Actualmente un tercio de la población mundial se encuentra infectada por *Mycobacterium tuberculosis* (1,900 millones) y cada año se estima que ocurren más de 10 millones de casos nuevos y 3.5 millones de defunciones. La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que entre el período 1997-2020 se presentarán mil millones de personas infectadas y 70 millones habrán muerto por esta enfermedad. En abril de 1993 la OMS declara a la Tb como una emergencia mundial.¹

Ocho de cada diez casos de Tb aparecen en el grupo de edad económicamente activo, de los 15 a los 59 años. Considerándose como una de la principales enfermedades que detienen el desarrollo social y económico de los países con alta prevalencia.²

En México se estima que más de 20 millones de habitantes han tenido la infección. Anualmente se registran 19,000 casos de tuberculosis activa y fallecen 5,000 mexicanos. La tasa de incidencia varía de acuerdo a los diferentes estados entre 4.2 y 37 casos por cada 100,000 habitantes en 1999.^{3,4}

En la Unidad de Neumología del Hospital General de México se observó que durante el período de 1989-1995 la Tb fue la principal causa de ingreso hospitalario y la segunda causa de consulta neumológica, sólo superada por la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. De los 2042 casos registrados en este período, 1,340 (65%) correspondieron a Tb pulmonar, la Tb extrapulmonar representó el 30% de todas las formas con 593 casos y la tuberculosis miliar (TbM) con 109 casos el 5%.⁵

1.1 TUBERCULOSIS MILIAR

El término TbM fue utilizado por primera vez por John Jacob Manget en 1700 para denominar la presencia de pequeñas lesiones tuberculosas de 2-4mm de diámetro, semejantes a las semillas de mijo en pulmones y otros órganos por la diseminación del bacilo tuberculoso.⁶

La TbM se debe a una diseminación hematológica (que puede ser precoz o tardía) de bacilos viables, a partir de una lesión previa, generalmente de la primoinfección. Se manifiesta como un infiltrado micronodular difuso en la radiografía de tórax, cuando se disemina por erosión de una arteria de la circulación pulmonar, localizándose exclusivamente en los pulmones (granuloma), o como una diseminación sistémica que puede afectar hígado, bazo, riñones, médula ósea y otros órganos, si el vaciamiento del material infectante ocurre en una vena pulmonar.⁷

Las diseminaciones se pueden producir desde la penetración y colonización del bacilo hasta el desarrollo de la hipersensibilidad tuberculínica, siendo ultratempranas cuando suceden en el curso de la formación del complejo primario. Ya establecida la sensibilidad tuberculínica se denominan diseminaciones tempranas y las que se producen en la involución de las lesiones primarias en épocas más o menos posteriores a la primoinfección son diseminaciones tardías.

1.1.1 PATOGENIA

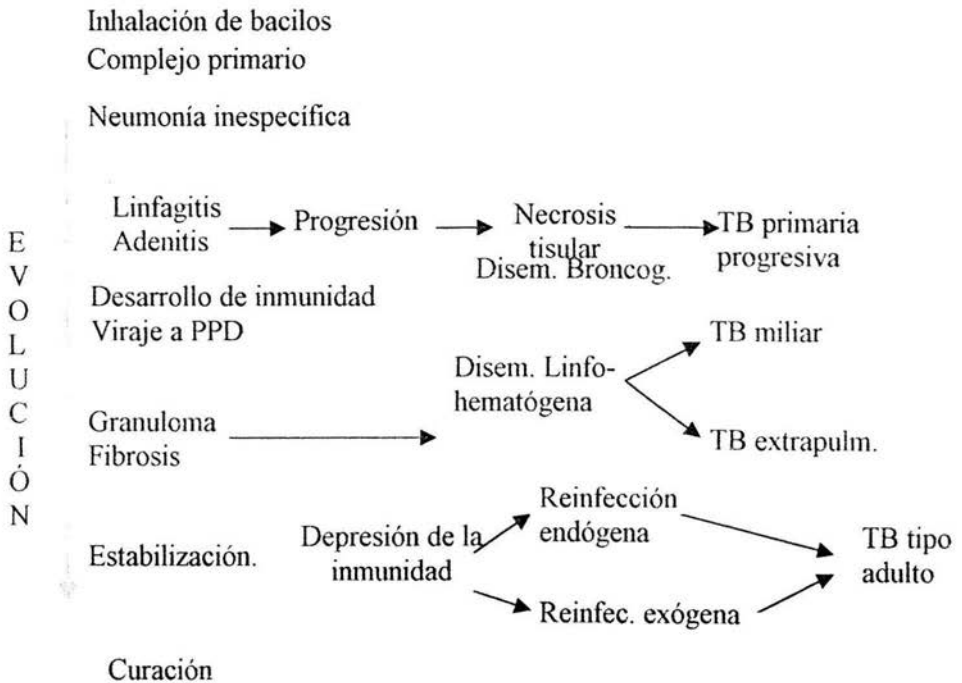
A partir de un foco tuberculoso ubicado en cualquier parte del organismo, la infección bacilar se puede propagar a la sangre por vía linfohematológica. Los bacilos siguen los linfáticos intersticiales, los conductos linfáticos y los ganglios, por los linfáticos colectores desembocan en el confluente venoso yugulosubclavio, desde donde alcanzan las cavidades derechas del corazón y por la arteria pulmonar, determinan la siembra en los pulmones. Allí los bacilos se pueden detener e iniciar su acción patógena o bien pueden sobrepasar el filtro pulmonar y llegar por las venas pulmonares a la aurícula izquierda, ventrículo izquierdo y por la aorta a cualquier órgano o varios de ellos.

El cuadro patológico se debe a la invasión masiva de la sangre por los bacilos, que embolizan los lechos capilares y forman tubérculos que si no son controlados por la resistencia del huésped, progresan hacia la necrosis y la caseificación. En consecuencia, todos los órganos con aporte sanguíneo profuso y abundante lecho capilar tienen riesgo de ser infectados y muestran un compromiso más intenso.

La diseminación miliar también se presenta en caso de lesiones tuberculosas antiguas a nivel pulmonar o extrapulmonar que se reactivan y liberan gran número de bacilos tuberculosos hacia el torrente sanguíneo. Se cree que dicho mecanismo es responsable de muchos casos de tuberculosis miliar en adultos y ancianos.⁸

TABLA I

PATOGENIA DE LA TUBERCULOSIS



1.1.2. FACTORES DE RIESGO

La TbM es una enfermedad compleja, debido a que existen varios factores que favorecen su desarrollo y la aparición de estos factores varía entre individuos y entre grupos humanos, destacando lo siguiente:

1. La virulencia del bacilo que está dada por la capacidad de crecimiento, de invasividad y de la habilidad del microorganismo para evadir la respuesta inmune del hospedero.
2. La respuesta inmune del hospedero, a su vez depende de:

- a) Constitución genética. Algunos individuos y grupos étnicos tienen una mayor susceptibilidad a padecer la enfermedad, debido a la participación de las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC), estas moléculas son el producto de los genes estructurales del complejo genómico HLA, localizado en el brazo corto del cromosoma 6. Las regiones HLA se dividen en clase I, clase II y clase III, la región clase II, contiene los loci DR, DRP, DQ, DMA, DMB, DNA, entre otros.

Esta región clase II juega un papel muy importante en la respuesta inmune en Tb, ya que es en esta región donde el macrófago alveolar después de opsonizar al bacilo lo presenta en forma de péptidos para que a su vez el MHC clase II interaccione con los receptores de superficie de los linfocitos T y se secreten una serie de interleucinas y citocinas que en relación a la hipersensibilidad de tipo retardado regulan el daño o no de los tejidos del huésped.

Variaciones estructurales del MHC (sustituciones puntuales de algún aminoácido por otro con distinta carga), van a modificar la forma en que el antígeno es presentado a los linfocitos T cooperadores y en consecuencia la respuesta inmune, condicionando una mayor susceptibilidad o riesgo de contraer la enfermedad. Gorodezky y cols demostraron que en población mestiza mexicana, el DR2 confiere susceptibilidad y esta asociado a las formas graves de la enfermedad, además observaron que los pacientes portadores de DR2 se comportan como anérgicos.

- b) Condiciones socioeconómicas. La incidencia de Tb es mayor en las clases sociales con menos recursos económicos, en que las condiciones de marginación como desnutrición, hacinamiento, falta de servicios sanitarios, agua, atención médica, baja escolaridad, son determinantes.⁹

Por lo tanto se encuentran en mayor riesgo de presentar TbM los niños, los ancianos, los hombres de raza distinta a la blanca, los alcohólicos, los desnutridos, los infectados por HIV y los diabéticos.

Los trastornos inmunitarios congénitos o adquiridos por enfermedades coexistentes; ó tratamiento inmunosupresor, también conllevan el riesgo de tb diseminada. Diversos artículos señalan que la TbM tiene relación con leucemia, linfoma, diálisis y trasplante renal. La incidencia de TbM y extrapulmonar en pacientes con diálisis es de un 50% de acuerdo a varios estudios.^{10,11,12,13}

Kaplan y colaboradores después de estudiar pacientes oncológicos, encontraron una incidencia de TbM de 17% asociada a la neoplasia o al tratamiento de la misma. En pacientes que están en tratamiento con quimioterapia, radioterapia o esteroides la forma de Tb que más presenta es la TbM.

1.1.3. CUADRO CLINICO Y ESPECTRO DE LA ENFERMEDAD

La TbM tiene una incidencia del 8%. Cuando no recibe tratamiento tiene una mortalidad del 50% o más.¹⁴

El cuadro clínico varía de forma muy importante y por eso es tan difícil sospecharla. Los síntomas más frecuentes son tos, expectoración, sudoración nocturna, fiebre y disnea. La fiebre puede ser continua, pero a veces de bajo grado e intermitente. La disnea cuando está presente, puede deberse a la lesión pulmonar subyacente o a disminución de la capacidad de difusión secundaria a la invasión por los tubérculos intersticiales.⁸

Al examen físico los signos más frecuentes son fiebre, inanición, taquicardia y taquipnea, se puede encontrar hepatoesplenomegalia y en el fondo de ojo tubérculos coroides que se han descrito como característicos de diseminación hematogena. Estos son grises, blanco-grisáceos o amarillos, casi siempre de un tamaño menor a una cuarta parte del disco óptico y suelen aparecer a 2 mm del nervio óptico. Por lo general son múltiples y bilaterales pudiendo ser de 1 a 5 en la coroides de ambos ojos.^{7, 14,15}

También existen manifestaciones cutáneas, llamada tuberculosis cutis miliaris disseminata. Son lesiones que consisten en pápulas y máculas pequeñas, duras y eritematosas que al principio tienen el tamaño de la cabeza de un alfiler, más adelante se recubren por pequeñas vesículas que, luego de romperse, originan pápulas con una costra central. Estas lesiones se localizan con mayor frecuencia en muslos, glúteos, genitales y extremidades.⁸

Pueden manifestarse diversas formas clínicas si han sido afectados otros órganos además de los pulmones. La cefalea es de mal pronóstico y por lo general indica la presencia de meningitis tuberculosa, en la forma encefalomeníngea predominan las manifestaciones neurológicas. La frecuencia de la Tb cerebral asociada con TbM es discutible, algunos autores la reportan en un 22%.¹⁶

El dolor abdominal resulta menos específico, pero se relaciona con invasión al peritoneo u obstrucción intestinal parcial secundaria a invasión de ganglios linfáticos o del epiplón. En la localización laríngea, los síntomas principales son la disfagia y la disfonía.

El cuadro clínico se desarrolla a veces con sintomatología subaguda, pseudogripal o de una infección general, con escasa tos, expectoración y hemoptisis. El examen semiológico puede llegar a no determinar la presencia de alteraciones y solo un síndrome febril y la disnea orientan hacia el compromiso respiratorio.

Otras veces el único elemento orientador es un síndrome febril prolongado.

Existen presentaciones inusuales que inclusive pueden confundirse con linfomas, con linfadenopatía generalizada, con ganglios cervicales, inguinales, axilares y mediastinales, con hepatoesplenomegalia, derrame pleural y afectación peritoneal con ascitis.¹⁷

Por lo general, los síntomas y los datos clínicos son inespecíficos y el diagnóstico suele retrasarse, aún meses desde el inicio de la sintomatología.

1.1.4. EXAMENES DE LABORATORIO

En la biometría hemática, el espectro de anomalías de las células sanguíneas varía desde la pancitopenia, con o sin aplasia de la médula ósea, hasta las reacciones leucemoides, algunas veces confundidas con verdaderas leucemias.¹⁸

La Tb afecta la médula ósea de diferentes modos, puede dañar cualquiera de las líneas celulares de la sangre. La fibrosis de la médula ósea se debe a la proliferación de macrófagos después de fagocitar micobacterias, dicha proliferación daña el microambiente de la médula ósea disminuyendo las líneas celulares primordiales, fenómeno conocido como mielofitosis.¹⁹

Las anemias mielofíticas se caracterizan por la presencia de eritrocitos en forma de lágrima, eritrocitos nucleados y granulocitos inmaduros en el frotis de sangre periférica.

La TbM puede complicarse con aplasia o hipoplasia de médula ósea, pero la anemia o pancitopenia presente en estos casos por lo general es secundaria a disfunción de la médula ósea más que por la aplasia.²⁰

Generalmente el recuento total de la serie blanca está dentro de los valores normales, pero tiene a menudo una desviación a la izquierda con leucocitosis reactiva y aumento de las formas inmaduras. La linfocitosis no es frecuente, así como tampoco la leucopenia y la plaquetopenia. Las alteraciones más frecuentes son la anemia y la linfopenia.¹⁸

Otros mecanismos que también producen anemia son la infiltración directa de la médula ósea por granulomas o amiloide.^{21,22}

La cuenta de células en sangre periférica y médula ósea se normaliza después de tratamiento antituberculoso adecuado.²³

Los factores de la coagulación sanguínea, como el fibrinógeno y la protrombina, pueden estar disminuidos y se sintetizan pobremente en el hígado en los raros pacientes con coagulación intravascular diseminada, que se ha descrito como causa de muerte en este tipo de pacientes.²⁴

Maartens y cols., estudiaron a 109 en un período de 10 años encontrando que las anomalías hematológicas más frecuentes fueron linfopenia (87%), trombocitopenia (23%) y leucopenia (15%).²⁴

Raramente existe insuficiencia hepática, las pruebas de la función hepática son levemente anormales en la mitad de los enfermos, y hay un aumento de la fosfatasa alcalina en un tercio de los mismos. La anomalía de estas dos pruebas manifiesta un proceso infiltrativo del hígado.

Puede existir hiponatremia como manifestación de un síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética.¹⁴

En las pruebas de función pulmonar existe un patrón restrictivo, con disfunción respiratoria de tipo hipoxémico y gradiente arterioalveolar aumentado. La capacidad de difusión de monóxido de carbono está muy disminuida en el estadio agudo y aumenta a sólo el 50% del valor normal después de varios meses de tratamiento específico, a pesar de que la resolución radiográfica sea completa.²⁵

1.1.5. CARACTERÍSTICAS RADIOGRÁFICAS

La demostración de lesiones miliares en la radiografía de tórax es un dato fundamental en el diagnóstico de la TbM. La radiografía de tórax tiene una sensibilidad del 59-69% y una especificidad del 97-100%.²⁶

Las características radiográficas consisten en opacidades nodulares de 1 a 3 mm de diámetro (en el 90% de los casos) distribuidas en todo el parénquima pulmonar. Los nódulos raramente alcanzan un diámetro mayor de 5 mm (en un 10% de los casos pueden medir hasta 10 mm).

Estos nódulos se extienden en sentido apicocaudal desde el vértice hasta la base de ambos pulmones, la progresión de estas lesiones no es detenida por las cisuras pulmonares. Es más frecuente que se localicen en la parte superior de los campos pulmonares. Las lesiones superiores presentan una tendencia a la evolución crónica, provocan una retracción del lóbulo superior que efectúa una traslación hacia el ápice pulmonar de las lesiones inferiores, formando así un conglomerado lesional.

Las lesiones inferiores presentan tendencia a la resolución, dejando residuos que la mayoría de las veces pasan inadvertidos por la distensión pulmonar compensadora que originan.

Las lesiones se complican con enfisema perilesional o cicatrizal dentro y fuera del territorio donde se asientan, dando origen a enfisema buloso, de difícil diferenciación con las cavernas hematógenas.

En cambio las diseminaciones broncogénas responden a una lesión preexistente, más antigua, que es fuente de infección del mismo lado o del otro pulmón, son unilaterales, asimétricas, segmentarias, lobulares y cruzadas u homolaterales.²⁶

Se han identificado también otras anomalías radiológicas adicionales en un 32 a 47% como son áreas de consolidación, cavitación, derrame pleural y linfadenopatías.

Con el tratamiento adecuado, la mejoría clínica puede ser rápida y la desaparición de los nódulos ocurre mucho más temprano que en las formas de tuberculosis pulmonar no hematogénas. Radiográficamente la resolución es completa y sin secuelas. La mejoría se produce antes de los cuatro meses en la mayoría de los pacientes y está relacionada con el grado de compromiso inicial.

1.1.6 TOMOGRAFIA DE ALTA RESOLUCION

Después de la diseminación hematogena, los micronódulos tardan en hacerse visibles radiográficamente por lo menos de dos a tres semanas y aún así es difícil la interpretación de las lesiones iniciales, por lo que hasta en un 30 a 50% de las radiografías pueden reportarse como normales.

La tomografía de alta resolución (HRTC) ha demostrado ser superior que la radiografía de tórax para la identificación de anomalías en el parénquima pulmonar, ya que los micronódulos menores de 2 mm de diámetro podrían pasar inadvertidos en una radiografía de tórax, pero la HRTC puede captar micronódulos de hasta 1 mm de diámetro.^{27,28}

También por este método se han identificado otras anomalías adicionales a los micronódulos, que inclusive no son observables en la radiografía de tórax y que se han encontrado hasta en la mitad de los casos, como son opacidades reticulares de predominio en los lobulillos inferiores, con un patrón de atenuación llamado en vidrio despolido (ground-glass).

Otro patrón denominado árbol en yema (tree-in-bud), se observa cuando existe bronquiolitis o bronquiolectasis por procesos inflamatorios, el cual se considera característico aunque no patognómico de la Tb broncogénica.²⁹

1.1.7 ANATOMIA PATOLOGICA

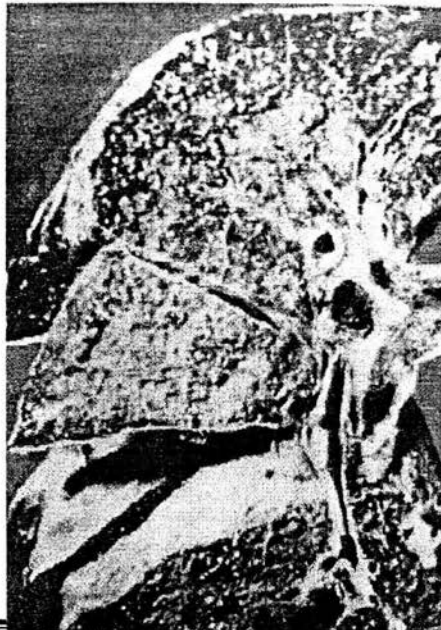
En la Tb miliar los pulmones y otros órganos a nivel macroscópico aparecen sembrados uniformemente por una cantidad de pequeñas lesiones redondas, puntiformes que constituyen las granulaciones tuberculosas. Su color varía de gris a café rojizo, tienen un diámetro entre 2 y 4.5 mm, de consistencia firme, y pueden por confluencia, dar un aspecto irregular.

Los focos miliares producen lesiones características denominadas túberculos de Koester que están constituidas por una necrosis caseosa central rodeada de una corona de linfocitos y macrófagos que se encuentran mezclados con células epitelioides. La tinción de Ziehl-neelsen puede identificar a los bacilos dentro de los macrófagos o células epitelioides e incluso en el centro caseoso de la lesión.

Los bacilos presentan una distribución compatible con su diseminación a través del torrente sanguíneo, afectando a los órganos con mayor aporte como hígado, bazo, meninges, riñón, médula ósea, glándula suprarrenal y retina, con menor frecuencia se depositan en tiroides, glándula mamaria, páncreas, corazón, próstata, testículos e hipófisis.⁸

En un estudio de autopsias de 29 casos de TbM del hospital de Asturias de 1971 a 1994, se realizó el diagnóstico correcto en sólo 8 de los casos, se observó el patrón radiológico típico de la TbM en el 17% de los casos. Los órganos más afectados fueron pulmones (100%), hígado (82%), bazo (75%), ganglios linfáticos (55%) y médula ósea en un 41%.³⁰

Fig. 1 Vista macroscópica de un pulmón con Tb M, se observan granulomas miliares de 2-4 mm, que se esparcen por todo el parénquima pulmonar



1.1.8. TRATAMIENTO

En este tipo de enfermos, de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana para el control de la Tb, está indicado el tratamiento antituberculoso estrictamente supervisado con isoniacida 300 mg, rifampicina 600 mg, pirazinamida 1500 mg, que se administra en un comprimido único (Rifater®), además de etambutol 1200 mg, cada 24 h de lunes a sábado, con duración de 1 año. En casos especiales como aquellos que cursen con Tb meníngea, laríngea, ótica, ocular y pleural es conveniente la adición de esteroides.^{3,31}

El tratamiento se divide en una fase intensiva de lunes a viernes, si el enfermo pesa más de 50 kg, se administran 4 grageas de Rifater y 3 de Etambutol hasta cumplir 60 dosis, que son aproximadamente 2 meses, el resto del tratamiento se lleva en forma de fase de sostén en donde el tratamiento se administra lunes, miércoles y viernes, se suspende el etambutol y se continua con 4 grageas de Rifinah (isoniacida más rifampicina)

TABLA II

TRATAMIENTO PRIMARIO ACORTADO SUPERVISADO "TAES"

- A base de rifater + etambutol.
- Esquema del tratamiento primario de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana para la prevención y control de la tuberculosis 2000.
- Dos fases; primera "intensiva" 60 dosis.
- Segunda fase de "sostén" 3 veces por semana 45 dosis.
- Se instituye a todo caso nuevo que nunca a recibido tratamiento.
- TB de cualquier localización (excepto SNC, diseminada y ósea durante un año)

1.2 METODOS DIAGNOSTICOS

La mayor parte de los casos de TbM son diagnosticados por el cuadro clínico y la imagen radiográfica sin ser factible la comprobación bacteriológica.

El diagnóstico oportuno presenta muchas dificultades ya que la baciloscopía es positiva en esputo en menos de una tercera parte de los casos e inclusive un 30% puede tener radiografías de tórax aparentemente normales.^{27, 28}

El diagnóstico de la TbM depende de la bacteriología, la radiología y el examen histológico de las lesiones. Es obvio que la mayor seguridad en el diagnóstico etiológico de una infección la proporciona la demostración del microorganismo causal en las secreciones del enfermo (esputo, orina, lavado bronquial, líquido pleural, líquido cefalorraquídeo) o en las propias lesiones (biopsia pulmonar, hepática, médula ósea).

Las lesiones cutáneas, ganglionares y de serosas pueden ser importantes, cuando están presentes, para el diagnóstico etiológico.

Hasta un 25-30% de estos pacientes pueden presentar cultivo de Lowestein-Jensen positivo en orina, sin presentar sintomatología urinaria.

Las meninges y en consecuencia el líquido cefalorraquídeo, suelen estar comprometidas. A todos los pacientes con cuadros clínicos sospechosos de Tb meníngea se les debe practicar estudio del líquido cefalorraquídeo y búsqueda del bacilo.

En casi todos los líquidos orgánicos el bacilo se encuentra presente en un porcentaje muy bajo, siendo por esta causa necesarios todos los demás exámenes adicionales de los líquidos. Los líquidos orgánicos en la tuberculosis son exudados con aumento de las proteínas y recuentos celulares de varios cientos a miles de leucocitos con predominio de linfocitos.

La enzima adenosin deaminasa (ADA) participa en el catabolismo de las purinas, su actividad predomina en el tejido linfático participa en la diferenciación de las células linfoides y en el proceso de maduración de monocitos a macrófagos, su actividad es 10 veces mayor en los linfocitos T, por lo que se considera como un marcador de inmunidad mediada por células

Piras y colaboradores, demostraron que los niveles elevados de esta enzima tienen utilidad diagnóstica para Tb en el líquido pleural, líquido de ascitis y líquido cefalorraquídeo. Tiene una sensibilidad y una especificidad de 98 y 96% respectivamente a niveles iguales o mayores de 70 U/L.³²

1.2.1 TINCION DE ZIEHL-NEELSEN Y CULTIVOS

El diagnóstico bacteriológico presuntivo se establece en forma rápida y simple por la observación de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) mediante la técnica clásica de Ziehl-Neelsen o la de auramina rodamina, la cual tiene la ventaja de poderse realizar más rápido con una mayor sensibilidad, pero requiere un microscopio de fluorescencia y no todos los laboratorios cuentan con el equipo.

Cada uno de los métodos diagnósticos no están exentos de algún tipo de dificultad, en la tinción de Ziehl-Neelsen deben de existir entre 5,000 a 10,000 bacilos por ml de expectoración para que exista un 50% de posibilidades de ser detectados al microscopio. En Tb pulmonar tiene una sensibilidad del 65-70%.

El cultivo en medio de Lowestein-Jensen es una técnica con mayor sensibilidad, ya que bastan 10 bacilos por ml para que sea positivo, pero su mayor inconveniente es el crecimiento lento del bacilo, ya que requiere hasta 8 semanas, lo que implica un retraso considerable para el inicio del tratamiento específico. Este retraso puede comprometer su eficacia en formas tan graves como la TbM. En Tb pulmonar tiene una sensibilidad del 85-90%.^{33, 34}

Los cultivos pueden ser persistentemente negativos hasta en un el 10% de los casos de Tb activa.

Existen medios enriquecidos como el de Middlebrock que permite un crecimiento del bacilo en menor tiempo (4 semanas), junto con la determinación radiométrica del crecimiento, el sistema BACTEC, esta técnica es compleja, se necesitan laboratorios especiales ya que se trabaja con radioactividad y tiene la misma sensibilidad que el Lowestein-Jensen.

La comprobación bacteriológica para el diagnóstico de la TbM no es fácil debido a la escasa carga bacilar en los tejidos afectados, disminuyendo la positividad de las baciloscopías y cultivos. Se ha reportado que sólo un 30% de estos pacientes tienen la baciloscopía en expectoración positiva.

La sensibilidad y especificidad de la tinción de Ziehl-Neelsen y el cultivo en medio de Lowestein-Jensen en otros órganos afectados, como la médula ósea no se conocen con exactitud.

1.2.2. ASPIRADO DE MEDULA OSEA

Las técnicas diagnósticas basadas en la búsqueda de lesiones histopatológicas, como la biopsia de hígado, no deja de ser un método invasivo y difícil de realizar en cierto tipo de pacientes (como los cirróticos). Tiene el inconveniente que los granulomas pueden ser vistos en otro tipo de patologías, como la sarcoidosis, los linfomas, coccidioidomicosis, histoplasmosis y prestarse a confusión.

Un método diagnóstico rápido y menos invasivo como es el aspirado de médula ósea permite observar lesiones histológicas compatibles con tuberculosis, es por esto que en los últimos años ha sido un método estudiado por varios autores.

Leisbinger cita a los siguientes autores:

Heile (1965) estudió a 9 pacientes encontrando en 5 granulomas (56%), Munt (1971) analiza a 30 pacientes y en 10 reporta granulomas (33%), Cucin (1973) estudia 25 pacientes y en 13 encuentra granulomas (52%), Prout (1980) 21 pacientes y en 15 granulomas (71%), Maartens (1990) 22 pacientes y en 18 granulomas (82%) y Kinoshita (1993) estudio a 8 pacientes y encuentra granulomas en los 8 (100%).³⁵

En el último estudio citado realizado por Kinoshita, en Japón, en donde la incidencia de Tb es baja, tardaron 5 años para incluir a los pacientes en el estudio, la muestra es poco representativa, y no se compararon los resultados obtenidos con el cultivo de Lowestein o con un estándar de oro. El hallazgo de granulomas sugiere Tb pero no es definitivo, ya que los granulomas pueden observarse en otras patologías que afecten médula ósea, la identificación del bacilo en cambio si es concluyente.³⁶

1.2.3. REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Se ha considerado que los métodos basados en la biología molecular, específicamente la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) podrían ser de gran utilidad para demostrar la presencia del bacilo en tejidos. La PCR fue desarrollada a principios de la década de los ochenta por Mullis y col. Se basa en el principio de amplificar un fragmento específico de DNA de forma ilimitada, en cada ciclo del proceso, se duplica el número de moléculas. Si se parte de una molécula de DNA, al término de 20 ciclos habrá cerca de un millón de copias de dicha molécula.^{37, 38}

Esta técnica puede detectar un número escaso de bacilos (1 a 10 bacilos), en comparación con las técnicas habituales e independientemente de la viabilidad de *M. tuberculosis*, ya que exclusivamente identifica la existencia del material genético de la micobacteria en el producto estudiado.

Su utilidad ya esta bien demostrada en algunos tipos de muestras clínicas, como la expectoración o el lavado bronquial, en donde se reporta una sensibilidad del 97% con una especificidad que varía del 73.2% al 100% de acuerdo a los diferentes estudios realizados, con un valor predictivo positivo del 82.7% y un valor predictivo negativo del 95.2%.^{34, 39, 40, 41}

También ya se ha usado en otro tipo de muestras clínicas como el aspirado de médula ósea. En Turquía se estudiaron 41 aspirados de médula ósea obtenidos de pacientes con fiebre de origen desconocido y se les realizo PCR para diagnóstico de TBM. Las muestras estaban almacenadas en un banco de médulas en bloques celulares procesados con parafina, no se menciona el tiempo de obtención del aspirado, ni cuanto tiempo estuvieron almacenados, además el procesamiento en parafina reduce en forma importante la sensibilidad de la PCR, inclusive obtuvieron un 14% de resultados contradictorios que piensan los autores fueron debidos a esta causa.

La PCR se encontró positiva en 30 de los aspirados con una sensibilidad del 73%., no se menciona la especificidad, ni valores predictivos, no describen las características clínicas de los pacientes y no existe correlación clínico-radiológica con respuesta a tratamiento por lo que no se puede saber cuales de estos casos podrían ser falsos positivos.⁴²

Capítulo II

2.1. JUSTIFICACION

La TbM es una de las formas más graves de la Tb por su alta morbi-mortalidad y su dificultad diagnóstica.

En la actualidad se considera que para lograr la erradicación de la Tb, es más importante mejorar los métodos diagnósticos que seguir perfeccionando el tratamiento.

La disponibilidad de una prueba diagnóstica simple, que permita la detección precoz de la tuberculosis y la implementación de un tratamiento oportuno probablemente tendrá un gran impacto en la lucha contra esta enfermedad.

2.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Tendrá mayor sensibilidad y especificidad la reacción en cadena de la polimerasa en el aspirado de médula ósea que los métodos actualmente utilizados como la tinción de Ziehl-Neelsen, el cultivo en medio de Lowestein-Jensen, para el diagnóstico de la TbM?

2.3. HIPOTESIS

La reacción en cadena de la polimerasa en el aspirado de médula ósea para el diagnóstico de la TbM tiene una mayor sensibilidad y especificidad que la tinción de Ziehl-Neelsen, el cultivo de Lowestein-Jensen.

2.4. OBJETIVOS

PRINCIPAL

Determinar la utilidad de la PCR en el aspirado de médula ósea como método diagnóstico en la TbM.

SECUNDARIO

Comparar la utilidad de la PCR, con la tinción de Ziehl-Neelsen, el cultivo en medio de Lowestein-Jensen en la expectoración, en la orina y en la MO, así como los hallazgos histológicos (granulomas, caseum) realizados en el aspirado de MO para el diagnóstico de la TbM.

2.5. MATERIAL Y PROCEDIMIENTO

2.5.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Diseño: Durante el periodo comprendido entre marzo de 1998 a marzo del 2000 se realizó un estudio, de validación de pruebas diagnósticas, con una maniobra aislada de respuesta terapéutica con valoración longitudinal, realizado en la Clínica de Tuberculosis del Hospital General de México, que es un centro académico de tercer nivel de referencia nacional para enfermedades respiratorias, ubicada en México, Distrito Federal; en colaboración con el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (Departamentos de Biología Molecular y de Investigación Inmunológicas).

A todos los pacientes que cumplieran con los criterios de inclusión se les realizó historia clínica completa y después de firmar la carta de consentimiento informado se les efectuó una prueba de PPD, se tomaron muestras de expectoración y orina para efectuar tinciones de ZN y cultivo de LJ. La inclusión de muestras de orina se hizo tomando en cuenta que del 25 al 30% de los casos con TbM tienen afección renal, aún sin presentar sintomatología.

Se realizó aspirado de médula ósea del esternón efectuando tinción de ZN, cultivo de LJ, PCR y búsqueda de hallazgos histológicos compatibles con Tb.

En los enfermos que además tenían órganos extrapulmonares afectados (nódulos linfáticos, pleura, laringe o piel), se realizó biopsia de la lesión para tinción de ZN, cultivo en LJ y búsqueda de datos histológicos compatibles con Tb. Todos los pacientes fueron enviados para estudio oftalmológico para la búsqueda de tubérculos coroides, ya que su hallazgo es útil para confirmar la diseminación hematogena de la Tb.¹⁵

A todos los pacientes se les dio tratamiento con rifampicina, isoniacida, pirazinamida y etambutol, por un año de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana.³ En cada caso se realizó una evaluación mensual para determinar la respuesta clínico terapéutica y la evolución radiológica.

Se estudió simultáneamente un grupo de 58 pacientes hematológicos, ya que éticamente no es posible realizarle a personas que no lo requieran un aspirado de médula ósea, estos pacientes no tenían antecedentes de padecer Tb, eran VIH-seronegativos y tenían radiografías de tórax normales. En todos se realizaron los mismos estudios de gabinete y laboratorio descritos para el grupo de estudio.

PACIENTES: Se estudiaron 30 pacientes con diagnóstico clínico de TbM con los siguientes criterios:

2.5.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN

Inclusión:

- Pacientes mayores de 15 años.
- Pacientes que presentaban dos o más de los siguientes síntomas: tos, expectoración, hipertermia, disnea, pérdida de peso.
- Radiografía de tórax con patrón miliar, constituido por opacidades nodulares de 1 a 3 mm de diámetro distribuidas difusamente en todo el parénquima pulmonar, que pueden coincidir con otras lesiones como casquete pleural, derrame pleural ó cavitaciones.

No inclusión:

- Pacientes bajo tratamiento antituberculoso.
- Pacientes que cursen con prolongación de los tiempos de coagulación.
- Pacientes HIV seropositivos.

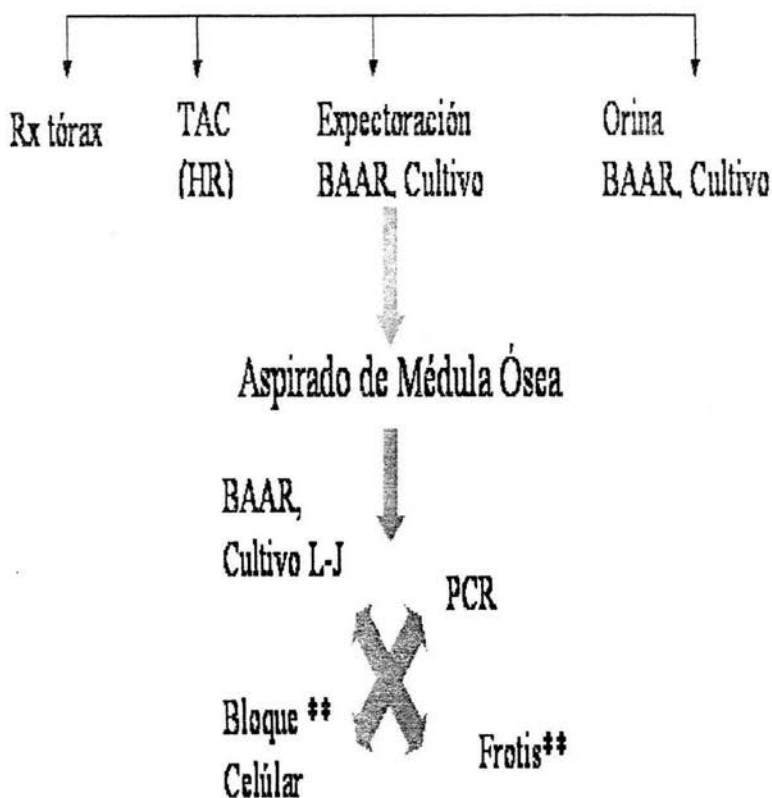
Eliminación:

- Pacientes que fallezcan antes de la realización del aspirado de médula ósea o en los primeros 2 meses del tratamiento y no se les haya realizado autopsia.
- Pacientes cuyas muestras deban desecharse por contaminación o falla técnica.

TABLA III

MATERIAL Y METODO

Caso sospechoso de tuberculosis hematogena*



búsqueda de granulomas**

2.5.3. CONSIDERACIONES ETICAS

La realización de los estudios inherentes al protocolo, se efectuaron con previa autorización de los pacientes y/o sus familiares directos, mediante consentimiento informado de acuerdo con los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud y del CIOMS (Council for International Organizations of Medical Sciences) para la investigación biomédica en seres humanos y se solicitó la autorización del comité de Ética del Hospital General de México.

Los pacientes que cumplían con los criterios de selección fueron estudiados, de acuerdo con los lineamientos de la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos en los artículos del 100 al 103.

2.5.4 TAMAÑO DE LA MUESTRA

Debido a que la TbM es una enfermedad con una incidencia baja del 8% con respecto al resto de las formas de Tb y en base al estudio del "Comportamiento de la Tuberculosis Hematógena en el Hospital General de México", en donde observamos que se presentan al año entre 14 y 18 casos de este tipo de Tb, decidimos que el tamaño de la muestra se definiera en base al Teorema del Límite Central. Este teorema se basa en el uso de la teoría estadística para la determinación de la distribución muestral de la media de cualquier situación particular. Señala que habitualmente, una muestra de 30 elementos que se emplea como un corte crítico, es decir, las distribuciones maestras de medias que utilizan muestras de 30 elementos o más se consideran con una forma de campana o gaussiana. También menciona que si la población original tiene una distribución normal, las medias de muestras de cualquier tamaño estarán distribuidas de forma normal.^{43, 44}

Por lo anterior estudiamos a 30 pacientes con TbM en 2 años y 58 pacientes hematológicos ya que dentro del protocolo de estudio de estos pacientes se les realiza médula ósea.

2.5.5. DEFINICION CONCEPTUAL

▪ Tuberculosis Miliar

Se define como una diseminación hematogena producida por la erosión de un vaso sanguíneo con el vaciamiento en él de contenido caseoso con *M. tuberculosis*, desde cualquier foco tuberculoso previo del organismo, lo que determina una siembra de pequeños granulomas miliares y que en la radiografía de tórax se reconocen como un infiltrado micronodular bilateral.

2.5.6. DEFINICION OPERACIONAL

▪ Tuberculosis Miliar

Se consideró con TbM a los pacientes que presentaban dos o más de los siguientes síntomas: tos, expectoración, disnea, hipertermia, pérdida de peso y además una radiografía o tomografía de alta resolución con infiltrado micronodular difuso y una tinción de Ziehl-Neelsen ó cultivo de Lowestein-Jensen positivos en expectoración, orina o cualquier órgano afectado y que tuvieran una adecuada respuesta terapéutica a los antituberculosos.

2.5.7. ESTANDAR DE ORO

- 1.- Ziehl-Neelsen positivo ya sea de expectoración, líquido pleural, biopsia de ganglio o cualquier otro sitio afectado, más respuesta terapéutica.
- 2.-Cultivo de Lowestein- Jensen positivo en expectoración, orina, tejido ganglionar o cualquier otro sitio afectado más respuesta terapéutica
- 3.-Respuesta terapéutica. En los casos en que solo existían datos clínicos y radiográficos y la bacteriología fue negativa, la respuesta al tratamiento antituberculoso específico confirmó el diagnóstico, considerándose como una respuesta adecuada al tratamiento la desaparición de los signos y síntomas, así como de los micronódulos en la radiografía.
- 4.- Hallazgos en la necropsia. En los casos en que sucedió el fallecimiento del paciente antes de la realización de las pruebas bacteriológicas, pero que ya se les había realizado el PCR en el aspirado de médula ósea, los hallazgos en la necropsia, así como el BAAR y cultivo de Lowestein postmortem de las lesiones tuberculosas confirmaron el diagnóstico.

2.5.8 PROCEDIMIENTO

Los procedimientos se realizaron de manera cegada, el PPD fue realizado por una sola persona que desconocía los datos del paciente, la tinción de Ziehl-Neelsen y el cultivo de Lowestein-Jensen fue realizado por otra persona que no tenía ninguna información del paciente, el PCR fue realizado por una misma persona de forma cegada.

2.5.8.1. Prueba cutánea con tuberculina (PPD).

Se utilizó 0.1 ml de PPD RT 23 (Staten serum institut, Copenhague, Dinamarca) correspondiente a 2 UT que se aplicó en la cara ventral del antebrazo izquierdo y se leyó a las 72 hrs, con regla milimetrada, en sentido transversal, el grado de induración. Se consideró como positivo cuando el diámetro de induración fue igual o mayor a 10 mm.

2.5.8.2. Tinción de Ziehl-Neelsen.

Preparación del Extendido. Con un lápiz graso se traza una línea en el portaobjetos para el extendido, con un aplicador de madera se coloca la muestra cerca de la línea divisoria y se extiende con el aplicador hacia el extremo opuesto, haciendo presión y extendiéndola de modo uniforme con movimientos circulares, posteriormente se pasa sobre la llama del mechero los bordes del portaobjetos y se le coloca sobre una repisa para que seque a temperatura ambiente.

Tinción del extendido. Consta de tres etapas coloración, decoloración y coloración de contraste. Para la coloración, los frotis se colocan sobre varillas de vidrio o una bandeja metálica, se cubre la superficie del extendido con fucsina fenicada filtrada, con la llama de un hisopo de algodón humedecido en alcohol se calienta el extendido, hasta que se produzca emisión de vapores blanquecinos, se repite esta operación dos veces más, se elimina la fucsina lavando el portaobjetos con agua a baja presión. Para la decoloración se cubre el extendido con alcohol-ácido, se toma la lámina por los bordes y se efectúa un movimiento de vaivén, para que el alcohol-ácido vaya decolorando y arrastrando la fucsina, cuando la solución decolorante adquiere una coloración roja se elimina el alcohol-ácido lavando con agua a baja presión, se considera decolorado el extendido cuando sus partes mas gruesas tienen un tinte rosado. Para la coloración de contraste se cubre el extendido con azul de metileno durante un minuto, después se lava el portaobjetos con agua a baja presión. Las láminas ya teñidas se secan a temperatura ambiente.

Observación microscópica. Se emplea un microscopio equipado con objetivo de inmersión (100X). Se coloca una gota de aceite de inmersión sobre el extremo más cercano a la numeración del extendido y sin tocar la superficie del portaobjetos, se enfoca el microscopio acercando el objetivo de inmersión hasta tocar la superficie de la gota de aceite ajustando con el tornillo micrométrico. Cada campo se divide en cuatro cuadrantes como la carátula de un reloj. La lectura se inicia en el superior derecho y se continúa con los otros en el sentido de las manecillas del reloj.

Los bacilos aparecen como bastoncitos delgados, curvos, teñidos de rojo, con gránulos más coloreados en su interior, aislados, en parejas o en grupos sobre el azul claro de la tinción de contraste. Se leen de izquierda a derecha del extendido un mínimo de 100 campos útiles, considerando campo útil en el que se observan elementos celulares de origen bronquial.

Los resultados se informan de la siguiente manera:

Negativo (-): No se encuentran bacilos ácido-alcohol resistentes en 100 campos observados.

Positivo (+): Menos de un bacilo por campo en promedio, en 100 campos observados.

2.5.8.3. Cultivo en medio de Lowestein- Jensen

- Muestras de esputo.

Se emplean tubos con tapa de rosca donde se coloca 2 ml de la muestra y 2 ml de hidróxido de sodio al 4% con rojo de fenol, en un equipo mecánico tipo vortex, se agitan los tubos 20 segundos antes, después se incuban a 37°C por 15 minutos, posteriormente se centrifugan a 3,000 revoluciones por minuto durante 15 minutos, se elimina el sobrenadante con un dispositivo que contenga fenol al 5%, se neutraliza el sedimento con ácido clorhídrico 1N o ácido sulfúrico al 8%, cuidando que el pH no sea menor de 6.5 ni mayor de 7.2, posteriormente se siembra.

- Muestras tomadas por punción.

Las muestras de médula ósea, líquido cefalorraquídeo o de líquido pleural y peritoneal son centrifugadas a 3,000 rpm durante 15 minutos, en frío y se deshecha el sobrenadante.

- Muestras obtenidas de biopsia.

Las biopsias de tejido ganglionar se homogeneizaron, se fracciona el material con un bisturí se le agrega agua y arena estériles y se colocan en un mortero, el cual esta cubierto con una hoja de papel estéril, se muele el material con la mano del mortero hasta obtener una suspensión que se inocula en el medio de cultivo.

- Procedimiento para la siembra.

Con un pipeta Pasteur se toma el producto neutralizado y se siembran de 3 a 3.5 mL en dos tubos con medio de Lowenstein-Jensen, las pipetas y los tubos después de abiertos y antes de cerrarse deben flamearse.

Una vez sembrados los tubos se colocan en una bandeja con fondo inclinado, para que el líquido sembrado cubra toda la superficie del medio, se incuban a 35-37°C, los tubos se revisan a las 48 horas y a los 7, 30 y 63 días.

Para obtener un cultivo positivo la muestra debe de contener por lo menos 10 bacilos viables por mL.

Estos procedimientos son los recomendados por la OMS.^{45, 46}

2.5.8.4. Aspirado de médula ósea.

Se tomaron por aspiración 10 ml de médula ósea del esternón por punción con aguja para médula ósea de calibre 15-18, modelo Osgood, Kortex, México. Con el producto se hicieron 10 extendidos en portaobjetos, la mitad se fijaron en etanol al 90% y las restantes se dejaron secar al aire para examen microscópico. A las laminillas fijadas en etanol se les realizó tinción de Papanicolaou y se montaron con resina sintética. Los extendidos al aire se tiñeron con *Dic-Quick*®, tinción nuclear rápida (Dade Behring ag) y se introdujeron por un minuto en metanol, otro minuto en tinción de eosina, posteriormente por 10 segundos en azul de metileno y se enjuagaron con agua corriente para su observación microscópica.

Bloque celular: Se tomaron 2 ml de médula ósea se fijaron con formol para bloque celular, el material fue centrifugado a 1500 x g, se fijó con etanol al 96%, se colocó en un trozo de papel filtro, se depositó dentro de una cápsula y se volvió a fijar con formol. Después de procesar el material en bloque de parafina, se realizaron cortes de 5 µm, se tiñeron con hematoxilina y se montaron en resina sintética.

2.5.8.5. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

A partir del aspirado de médula ósea se extrajo el DNA micobacteriano con bromuro hexadeciltrimetil amonio, el exceso de reactivo fue removido con una mezcla de cloroformo/alcohol isoamílico, el ácido nucleico se precipitó con isopropanol y se redisolvió en agua. La amplificación por PCR se hizo con los iniciadores de la secuencia de inserción *IS6110* TB11(5'-CACGCTAATTACCCGGTTCATCG-3') y TB12 (5'CAGCCGCCGCGACTGCGCGAT-3') en una concentración 1 µM, en mezcla con 200 µM dNTPS, 5 Ude *Taq* polimerasa, 50 mM de KCL, 100 mM de Tris-HCl, 1mM MgCl₂, ajustando a un volumen de 50 µl de agua, en un termociclador

(Perkin-Elmer-Cetus, Norwalk, CT, USA) con 45 ciclos de 94°C, 15 minutos para la desnaturalización, 68°C, 1 minuto 30 segundos para el alineamiento y 72°C, 7 minutos para la extensión. Se analizaron los productos por electroforesis en un gel de agarosa al 2% conteniendo 0.5µM de bromuro de etidio y se buscó la presencia de bandas de 123 pares de bases, correspondientes al complejo *M. tuberculosis*. Con el propósito de evitar contaminación, así como los resultados falsos positivos, se usó uracil DNA glicosilasa (PCR Core Kit Plus, Roche Diagnostics Mannheim, Germany). El resultado se dicotomizó como positivo o negativo.

2.5.8.6. Tomografía de alta resolución (HTRC).

Se utilizó un equipo de tomografía helicoidal (Prospeed Scanner System for High Resolution, General Electric). En cada caso se practicaron cuatro cortes de 1 mm en el vértice, tres en la región hiliar y tres en las bases pulmonares, la colimación de los cortes fue de 1 mm con factores de 120 Kv, 200 mA y tiempo de 1 segundo empleando un algoritmo de alta resolución espacial. Los cortes se realizaron en apnea inspiratoria. Las imágenes se evaluaron con ventana pulmonar utilizando una amplitud WW (With Window) promedio de 1238 y un nivel WL (Width Level) de 815.

2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el caso de la TbM no hay un consenso acerca de la prueba que deba considerarse como estándar de oro para comparar otras, por lo que se decidió aceptar como verdaderos positivos a los pacientes con sospecha clínica de TbM que presentaban BAAR o cultivo de Lowestein positivos, ya sea en expectoración o en otras muestras y una respuesta clínica favorable al tratamiento. Se construyó una tabla de contingencia de 2X2 para obtener sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos.^{44, 47}

Capítulo III

RESULTADOS

Se identificaron 30 pacientes con sospecha clínica de TbM, 19 hombres y 11 mujeres con un promedio de 40.2 años de edad y un rango entre 16 a 63 años.

En el grupo de contraste se estudiaron 58 pacientes hematológicos sin tuberculosis, 29 hombres y 29 mujeres, con un rango de edad de 15 a 84 años, con un promedio de 44.5 años., 16 de estos pacientes con diagnóstico de leucemia, 11 con linfoma, 7 con mieloma múltiple, 7 con trombocitopenia, 6 con anemia aplásica, 6 con purpura trombocitopenica idiopática y 5 con linfoma de Hodgkin.

En cuanto al cuadro clínico, en los enfermos con TbM el tiempo de evolución variaba entre un mes y los doce años demostrando que pueden existir cuadros agudos y crónicos de diseminación hematológica.

Ocho pacientes tenían antecedente de contacto estrecho con un familiar con tuberculosis.

El 71% de los pacientes presentaron tos y pérdida de peso que variaba entre los 4 y los 20kg, el 63% presentó hipertermia de predominio vespertino y nocturno, también el 63% presentó otros síntomas asociados a afección extrapulmonar de la tuberculosis como cefalea, disfonía, vómito, disfagia, dolor abdominal, disuria, poliaquiuria, hematuria.

El 54% presentó expectoración purulenta, el 46% disnea que fue en la mayoría de los casos de grandes esfuerzos, el 33% diaforesis nocturna, el 25% hemoptoicos, el 10% dolor torácico y el 8% hemoptisis.

Varios de los pacientes llegaron a solicitar consulta por síntomas extrapulmonares, pero al interrogatorio dirigido también presentaban tos, expectoración, disnea, pérdida de peso, pero no le habían dado importancia, complicándose el caso y retardando más el diagnóstico.

Las alteraciones más observadas en la biometría hemática fueron la anemia (hemoglobina < 13g/dL en hombres, < 11 en mujeres) y la linfopenia (menos de $1.5 \times 10^9 / L$), que se observaron en 17 pacientes, las cuales se corrigieron durante el tratamiento antituberculoso.

Todos mostraron nódulos bilaterales visibles en radiografía simple y en 22 de ellos se realizó HTRC; en 8 casos no fue posible hacer este estudio por su precaria condición clínica. En estos pacientes la HTRC confirmó la existencia de múltiples nódulos de 2 a 4 mm diseminados en ambos pulmones que se observaron con mayor precisión que en la radiografía simple, en 13 casos había algunos nódulos hasta de 5mm.

En 17 casos estas lesiones predominaron en lóbulos superiores y segmentos apicales de los lóbulos inferiores, con localización septal y subpleural. 11 pacientes presentaron un patrón miliar puro y en los otros 11 además de los nódulos bilaterales se observaron otras alteraciones como paquipleuritis, derrame pleural, adenopatías hiliares y focos neumónicos que no se habían apreciado en la radiografía simple de tórax. En 5 de estos pacientes se observó el patrón de vidrio despulido (*ground glass*) y en otros 6 había lesiones de límites no bien definidos, centrilobulares con impactación bronquiolar conformando el patrón de árbol en yema (*tree-in-bud*) que indica afección bronquial sugiriendo actividad de la Tb. En 10 pacientes con sospecha clínica de TbM el PPD fue positivo, al igual que en 8 de los testigos.

La tinción de ZN en la expectoración fue positiva en 13 de los 30 pacientes sospechosos (sensibilidad de 43.3% y especificidad de 100%), sin embargo, en la MO sólo un caso fue positivo.

El cultivo en LJ de muestras de expectoración fue positivo en 14 de los 30 pacientes (sensibilidad de 46.6% y especificidad de 100%), en tanto que en orina fue positivo en 5 casos (sensibilidad de 16.6% y especificidad de 100%). Una de las pacientes positivas en el cultivo de Lowestein en orina, presentaba afección pulmonar y en estómago, cursaba con una úlcera gástrica confirmada por endoscopia durante la cual se le realizó biopsia reportándose el ZN positivo de la úlcera, el ZN y el Lowestein de expectoración se reportaron negativos, en el cultivo de orina se le solicitó drogosensibilidad, la paciente presentaba muy mala evolución y tenía el antecedente importante de contacto estrecho con un paciente fallecido por Tb, la drogosensibilidad se reportó con multirresistencia, la paciente falleció.

En los aspirados de MO sólo una muestra mostró crecimiento en LJ, la misma que fue positiva para la tinción. Este paciente falleció durante el curso del estudio con diseminación de la Tb con afección renal, cutánea del miocardio y vertebral.

El estudio histopatológico de la MO demostró la presencia de células gigantes multinucleadas y granulomas en solamente 4 de los 30 casos sospechosos (sensibilidad de 13.3% y especificidad de 100%); 3 de estos pacientes tenían otra localización extrapulmonar tuberculosa, en columna, riñón y testículo, respectivamente.

La PCR fue positiva en los aspirados de médula ósea de 21 casos, de los 30 pacientes, con una sensibilidad de 70%, especificidad de 84% (Tabla V).

En 17 pacientes se encontró afección extrapulmonar en riñón, meninges, pleura, nódulos linfáticos, fondo de ojo, piel y estómago. El examen oftalmológico reveló en 2 casos tubérculos coroides en fondo de ojo. (Tabla VI).

Se realizó seguimiento de un año de los casos bajo tratamiento antituberculoso estrictamente supervisado, los pacientes acudían cada mes a consulta, donde se les tomaba radiografía de tórax y en expectoración tinción de ZN, mostrando buena respuesta clínica y radiográfica. 26 de los casos, los otros 4 pacientes murieron por tuberculosis con una diseminación avanzada 3 de ellos con afección extrapulmonar y el otro por insuficiencia respiratoria aguda. Se realizó necropsia en estos 4 pacientes encontrándose bacilos por tinción de ZN en 3 casos y el otro fue positivo en el cultivo de Lowenstein del tejido pulmonar.

En tres pacientes con pruebas negativas, la enfermedad se confirmó por la adecuada respuesta terapéutica, con desaparición completa de los síntomas y de los nódulos en la radiografía de tórax.

No se observaron complicaciones referente a la punción esternal. Siendo un procedimiento accesible que se puede realizar en la cama del enfermo.

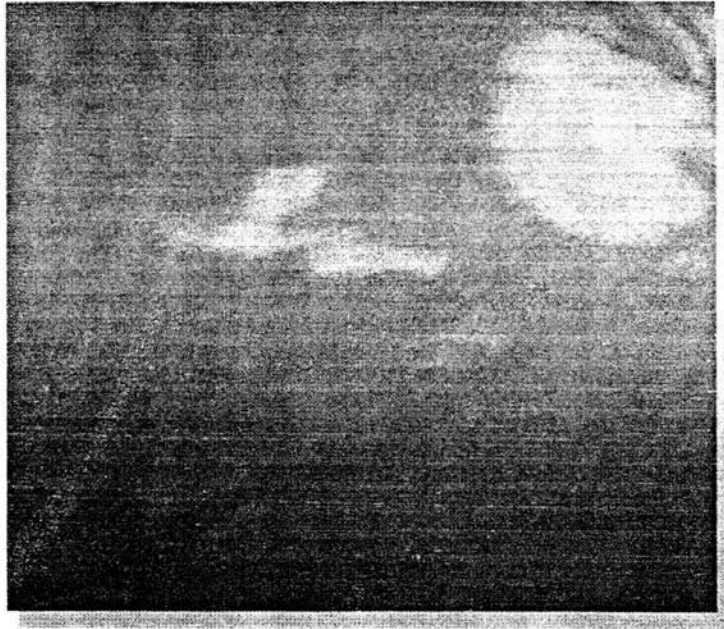


Fig. 2 TUBERCULOS COROIDEOS EN FONDO DE OJO
El paciente también presentaba afección meníngea

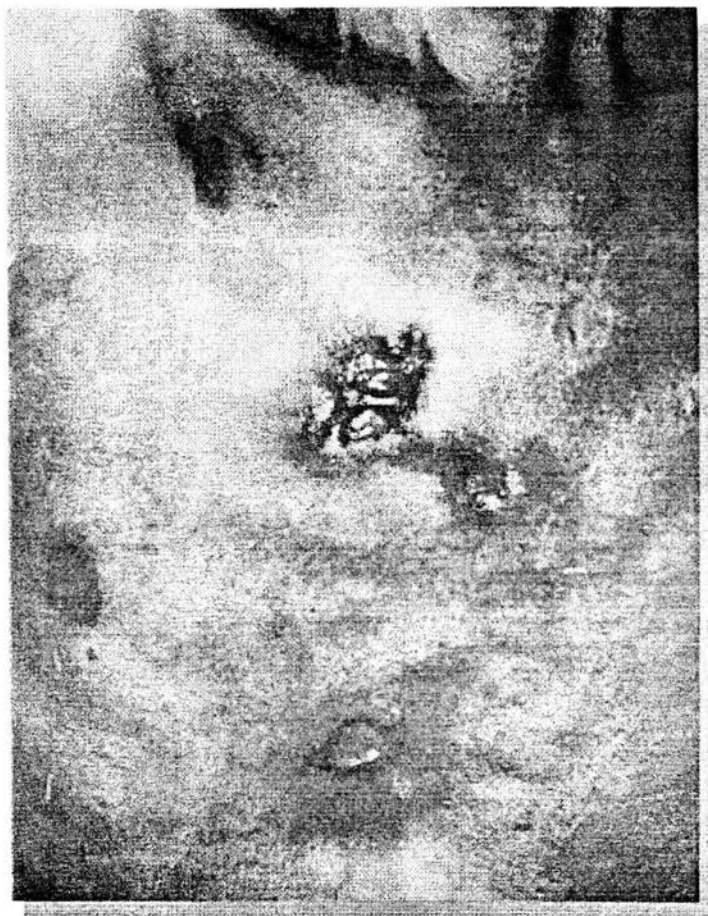


Fig. 3 TUBERCULOSIS CUTANEA COLICUATIVA

El paciente tenía doce años con estas lesiones, le curaban y volvían a aparecer, en estas lesiones se reportó el Ziehl-Neelsen positivo, así como en la médula ósea. Tenía afección en columna vertebral, riñón y miocardio.

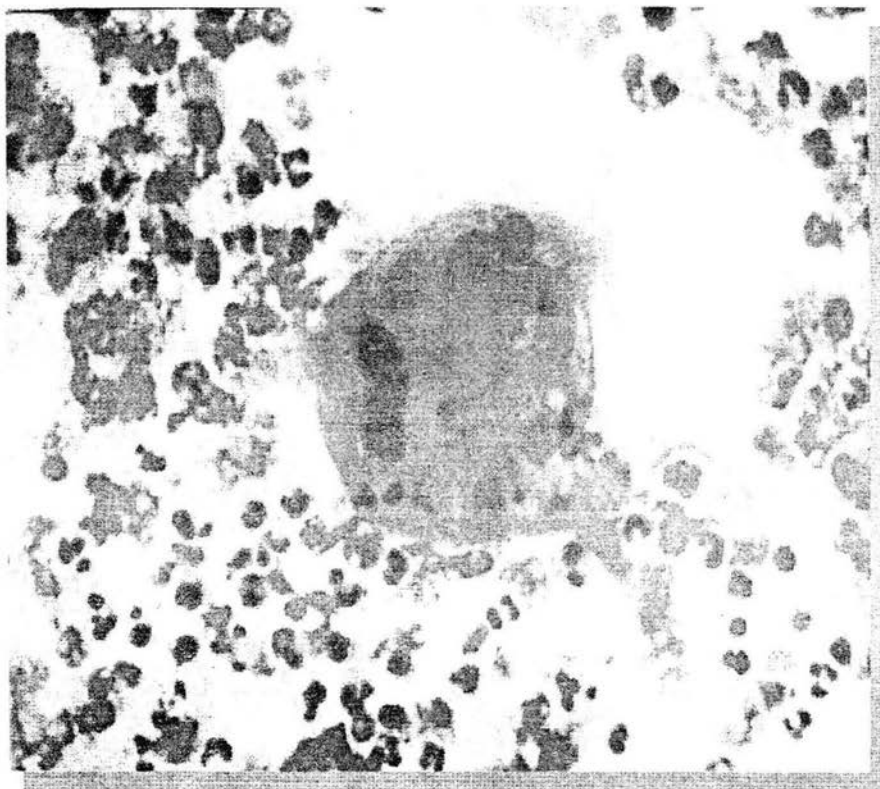


Fig. 4 CELULA GIGANTE MULTINUCLEADA
Característica de tuberculosis

TABLA IV

TUBERCULOSIS MILIAR

Síntomas más frecuentes	Porcentaje
• Tos	71
• Pérdida de peso	71
• Hipertermia	63
• Expectोरación	54
• Disnea	46
• Diaforesis	33
• Hemoptoicos	25

TABLA V

	MÉTODO	CASOS DE TBM		CASOS HEMATOLÓGICOS		SENSIBILIDAD %	ESPECIFICIDAD %	VPP %	VPN %
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo				
Ziehl-Neelsen BAAR	Expectoración	13	17	0	58	43	100	100	77
	Orina	3	27	0	58	10	100	100	68
	Médula ósea	1	29	0	58	3	100	100	66
Cultivo Low-Jensen	Expectoración	14	16	0	58	47	100	100	78
	Orina	5	25	0	58	17	100	100	70
	MO	1	29	0	58	3	100	100	67
	Histología MO	4	26	0	58	13	100	100	69
	PCR	21	9	9	49	70	84	70	84

ANALISIS ESTADISTICO

PCR EN MO

PV	FP
21	9
9	49
FN	NV

Sensibilidad= $PV/(PV+FN)$

Especificidad= $NV/(NV+FP)$

S= 70%

E= 84%

VPP= 70%

VPN= 84%

TABLA VI

AFECCIÓN EXTRAPULMONAR EN TB MILIAR

Se encontró afección en sitios extrapulmonares en 17 pacientes, 5 de los cuales tenían 2 o más sitios afectados y 7 tenían baciloscopia positiva en expectoración.

Localización Extrapulmonar	Número de pacientes	Método diagnóstico
Renal	6	Cultivo en Lowestein En orina, urografía
Ganglionar	4	Biopsia, Z/N y Cultivo
Laringea	2	Fibrobroncoscopia Biopsia, Z/N, cultivo
Cutánea	2	Biopsia, Z/N
Menígea	2	Punción lumbar ADA en LCR, TAC de cráneo
Tuberculosis Vertebral	2	Cultivo en Lowestein
Pleural	1	ADA en liq. Pleural Cultivo en low.
Apéndice ileocecal	1	Biopsia, Z/N
Péricardica	1	Biopsia
Estomago	1	Biopsia, Z/N
Tuberculos coroides	2	Fluorangiografía

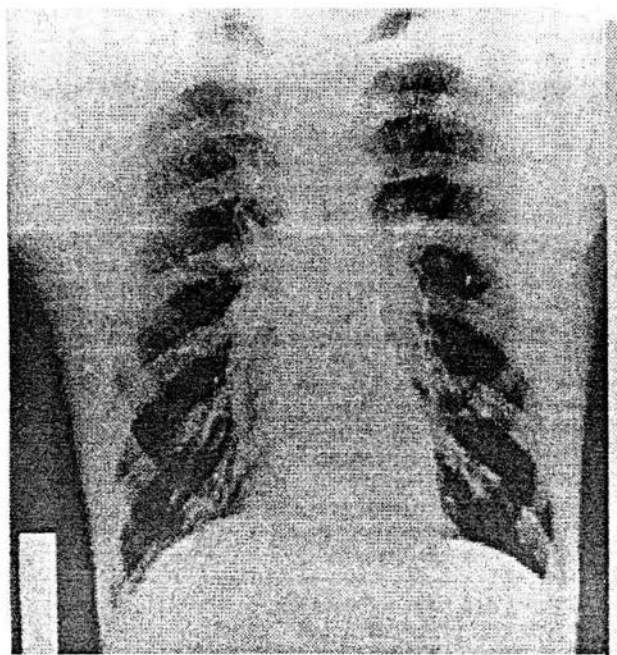


Fig. 5

Radiografía de tórax de uno de los pacientes donde se observa el infiltrado micronodular difuso que no se detiene por las cisuras.

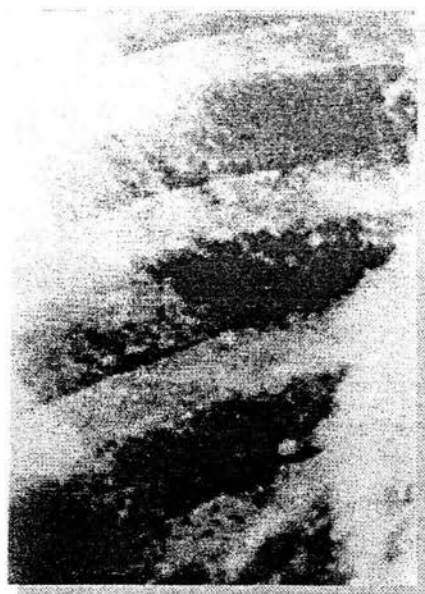


Fig. 6

Acercamiento que permite apreciar los micronódulos de 2-4mm

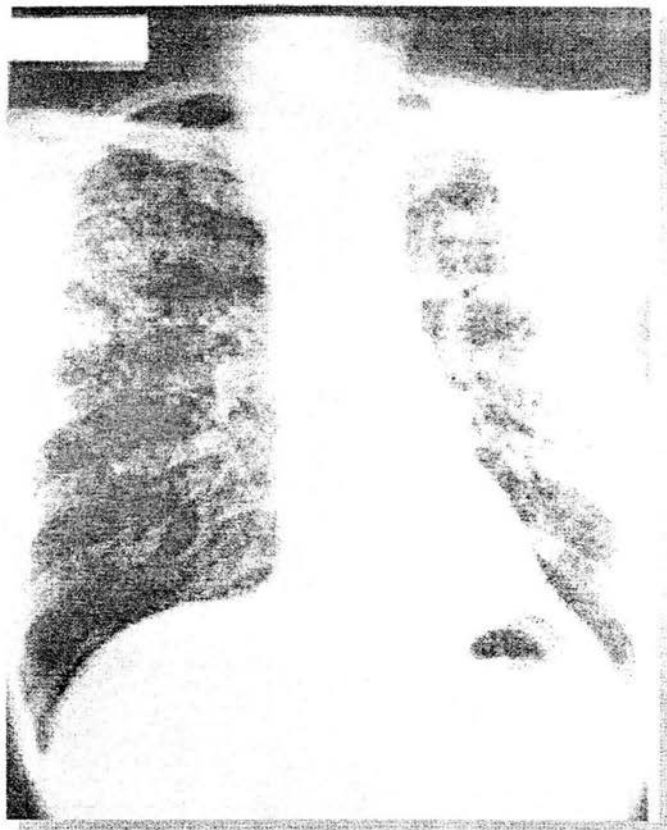


Fig.7 Radiografía de tórax donde se aprecia una Tb con diseminación mixta; broncogena y hematogena

Fig. 8 TAC de Alta Resolución donde se aprecia el infiltrado micronodular difuso que abarca todo el pulmón

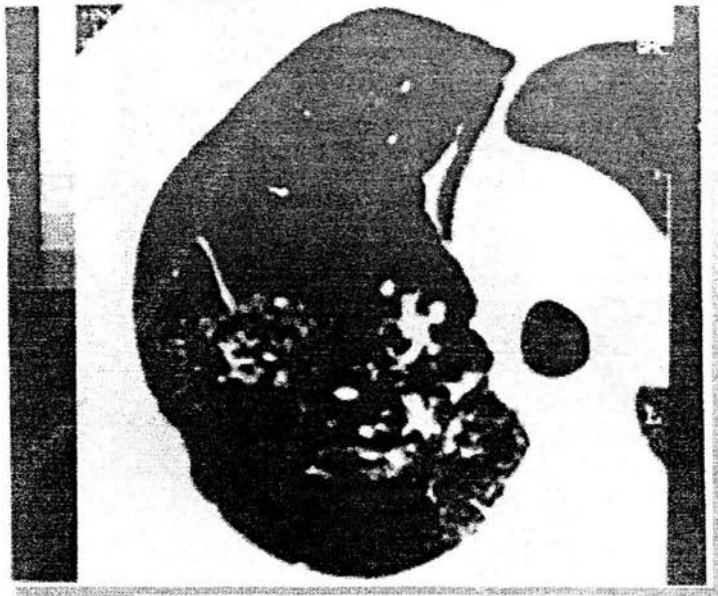


Fig. 9
Se observa imagen en vidrio despulido o "ground glass" esta tomografía pertenecía a un paciente que también cursaba con Tb ganglionar

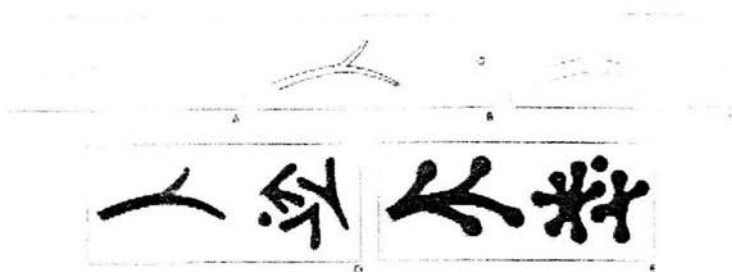
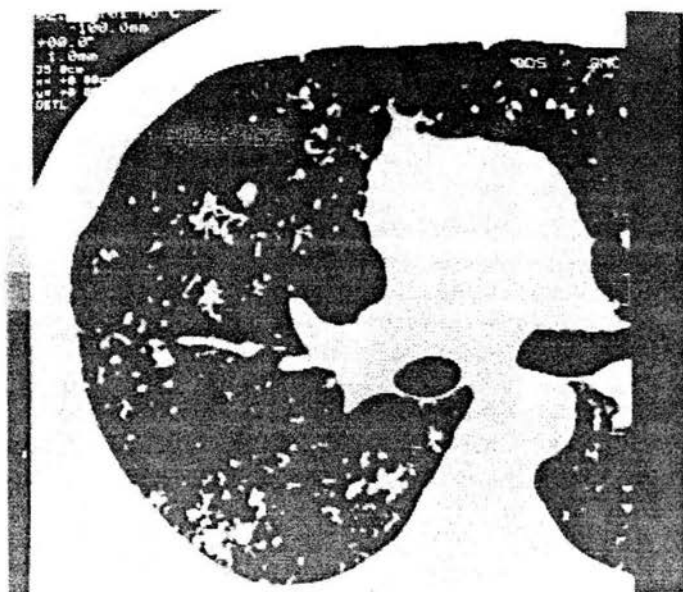
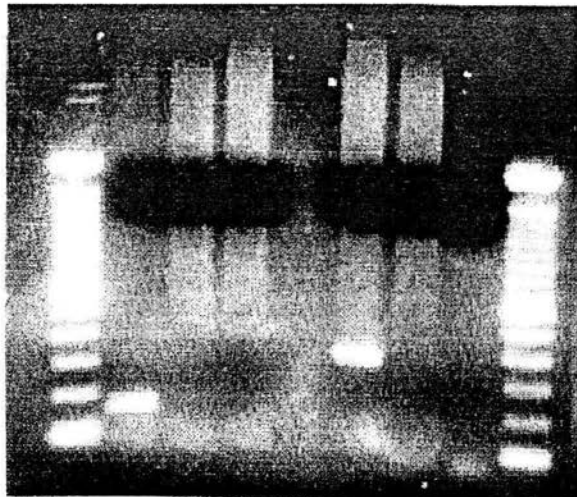


Fig. 10 TAC de Alta Resolución, donde se observa la lesión de "árbol en yema" que fue esquematizada en el dibujo y que indica afección bronquial, además del infiltrado micronodular, el paciente cursaba con diseminación mixta broncogena y hematogena



Fig. 11 y 12 Paciente con TbM con afección ganglionar, antes y después de 1 mes de tratamiento.

Fig. 13 Reacción en cadena de la polimerasa que se realizó en el tejido ganglionar del paciente
IS6110 123 pb



Capítulo IV

DISCUSION

La TbM es un padecimiento que constituye un problema diagnóstico ya que pocas veces se sospecha. Si no es tratada oportunamente su pronóstico es malo y con frecuencia es en la necropsia donde se obtiene el diagnóstico de certeza.

Se confunde con otras enfermedades y aún ante sintomatología sugestiva pocas veces se considera en el diagnóstico diferencial lo cual ocurre debido a la idea ampliamente generalizada de que la TbM es una enfermedad que sólo se presenta en edades extremas de la vida, o en individuos inmunocomprometidos. Los pacientes identificados en este estudio con TbM mostraron que se puede presentar en adultos jóvenes sin asociación con factores de riesgo que evolucionen con inmunosupresión.

Ante la sospecha clínica de la enfermedad, la integración del diagnóstico debe iniciarse con el análisis cuidadoso de las imágenes radiográficas. La radiografía del tórax presenta una imagen característica con nódulos pequeños diseminados en ambos campos pulmonares. Sin embargo en las etapas precoces de la enfermedad la radiografía puede no tener ninguna alteración y ser aparentemente normal, por lo que ante la sospecha de una tuberculosis hematógena es conveniente realizar una tomografía de alta resolución (HRTC). Con este procedimiento es factible observar con más precisión los nódulos característicos con un patrón miliar bilateral y descubrir otras lesiones inadvertidas en la radiografía simple, que se manifiestan como imagen en vidrio despolido y árbol en yema indicando actividad de la infección.

Por medio de la HRTC nos percatamos que 11 pacientes tenían lesiones antiguas de Tb que coincidían con el patrón miliar, por lo que la diseminación hematógena puede ocurrir en la edad adulta por reactivación de bacilos viables persistentes en lesiones residuales de la primoinfección tuberculosa.⁴⁸

La HRTC tiene alta sensibilidad para el diagnóstico de la TbM, cuando no se observan micronódulos por este método podemos estar seguros que el paciente no cursa con una TbM, el inconveniente es su alto costo y su baja especificidad ya que cuando se observa el patrón miliar también puede deberse a otras enfermedades como, coccidiodomicosis, histoplasmosis, por lo que se vuelve indispensable la identificación del bacilo.

Con los hallazgos radiográficos y tomográficos más el cuadro clínico sugerente de una TbM podemos incluso justificar el inicio de un tratamiento antituberculoso, aunque el resto de las pruebas sean negativas, debido a la gravedad de la enfermedad, pero lo conveniente siempre, es tratar de aislar al agente causal.

Así que a todo enfermo con tos, expectoración, fiebre, disnea, pérdida de peso y micronodulos en la radiografía de tórax, se le debe realizar tinción de ZN, aunque se reporta una sensibilidad del 30%, en este estudio casi la mitad de nuestros pacientes fue positivo en expectoración, sin embargo, demostró ser muy poco útil en la médula ósea ya que solo un enfermo se reportó positivo. Esto se pudo deber a que se necesitan de 5000 a 10 000 bacilos en la muestra estudiada y este tipo de pacientes cursan con poca carga bacilar.

El cultivo de LJ es el estándar de oro para todas las formas de Tb, porque puede identificar muestras con poca carga bacilar, sin embargo, en este estudio solo fue positivo en 14 pacientes, para la TbM en este estudio demostró baja sensibilidad ya que casi la mitad de los enfermos no pudo ser diagnosticado por este método, pero es indispensable para la identificación de la micobacteria y para realizar pruebas de drogasensibilidad en los casos que se sospeche resistencia al tratamiento. En este tipo de pacientes no es conveniente esperar el resultado del cultivo de LJ que es de 8 semanas en promedio, para dar el tratamiento antituberculoso, debido a la gravedad de la enfermedad, el tratamiento debe ser instalado ante la sospecha clínica y radiológica, para posteriormente ser confirmado con los diferentes métodos diagnósticos.

En presencia de una TbM es importante la búsqueda intencionada de posibles localizaciones extrapulmonares de órganos que pudieran estar afectados, debido a que su hallazgo sugiere que en efecto existe una diseminación hematogena generalizada y el tratamiento se indica sobre bases más firmes, además que podría haber complicaciones que necesitarán de otro tipo de tratamiento, por ejemplo, cuando existe afección renal se requiere en 95% de los casos de algún procedimiento quirúrgico (nefrectomía, enterocitoplastia, ileoureteroplastia, reimplantación del uretero), cuando el diagnóstico se ha realizado en etapas tardías de la enfermedad.⁴⁹

En esta serie 17 casos presentaron afección extrapulmonar de uno o más órganos, que respondieron satisfactoriamente al tratamiento con drogas antituberculosas, lo que confirmó la importancia de buscar intencionadamente las localizaciones extrapulmonares.

De los 6 pacientes con afección renal ninguno requirió tratamiento quirúrgico, pero otros tres pacientes fueron intervenidos por complicación de la diseminación hematogena, a un paciente con tb meníngea se le colocó una valvula de derivación ventrículo peritoneal por hidrocefalia, a otra paciente se le realizó apendicectomía encontrándose el apéndice con BAAR positivo, a otra paciente se le realizó ventana pericárdica, estos tres pacientes sobrevivieron y respondieron satisfactoriamente al tratamiento antituberculoso.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Una de las preguntas que surgieron en el transcurso de este estudio era la factibilidad de detectar al *Mycobacterium tuberculosis* por PCR en individuos que no tuvieran alteraciones en la biometría hemática. Ya que de acuerdo a Lombard la ausencia de una linfopenia periférica hace poco probable la afectación de la médula ósea por el bacilo. Este autor analizó la médula ósea y la sangre periférica de 25 pacientes con granulomas tuberculosos detectados al examen de la médula ósea, para determinar si los hallazgos hematológicos estaban asociados a la infiltración tuberculosa de la médula ósea. Todos los enfermos presentaron por lo menos una anomalía del recuento globular, la linfopenia era el único factor común en todos los enfermos, pero esta linfopenia periférica estaba asociada a una linfopenia de la médula ósea solo en un 14%, también encontraron una reserva de hierro reducida en un tercio de los enfermos.¹⁸

En este estudio 12 pacientes con anemia y linfopenia fueron PCR positivos, otros 4 pacientes con anemia y linfopenia fueron PCR negativos, en 5 pacientes con tuberculosis miliar sin ninguna alteración en la biometría hemática fueron PCR positivos y 2 pacientes con TbM sin ninguna alteración en la biometría hemática fueron PCR negativos. En 4 de nuestros pacientes se observaron granulomas en la médula ósea, 3 de estos cursaban con alteraciones en la biometría hemática y 1 tenía la biometría normal. Existen estudios postmortem en donde concluyen que la médula ósea está afectada en 100% de los casos. Nosotros pensamos que no hay relación entre la positividad de la PCR y las alteraciones en la biometría hemática, ya que en una TbM aguda probablemente el bacilo está en la médula pero aún no se observen cambios en la sangre periférica, o no se observen granulomas en el análisis histopatológico de la médula, también puede haber otras causas que expliquen estas alteraciones en la biometría hemática, como la desnutrición, por lo que consideramos que es un problema complejo y donde intervienen muchos factores, desde la carga bacilar, la patogenicidad del bacilo, el tiempo de evolución de la enfermedad y de la respuesta inmunológica del huésped, consideramos que se requieren más estudios en este aspecto.

En el grupo de pacientes hematológicos encontramos 8 casos con PCR falso positivo, lo cual se podría explicar por que México es una área endémica de tuberculosis y los pacientes podrían estar infectados de tuberculosis, aunque no enfermos.

Hernández Pando y colaboradores en un estudio que se realizó en población infantil mexicana y de Etiopía identificaron por PCR *Mycobacterium tuberculosis* en macrófagos alveolares, neumocitos tipo I y tipo II, en células endoteliales y fibroblastos y en la médula ósea en estudio postmortem. Los pacientes habían muerto por otra causa que no era tuberculosis. Se comprobó que el DNA de *Mycobacterium tuberculosis* puede ser identificado en otras células que no sean fagocíticas y que incluso estos bacilos no producen lesiones histológicas evidentes.⁵⁰

Los hallazgos histológicos de granulomas y caseum en el aspirado de médula ósea se observan en el 30% de los casos, en este estudio solo cuatro casos fueron positivos; con biopsia de MO se ha reportado la presencia de estas lesiones hasta en 70%.⁵¹ Se considera que su utilidad es variable en el diagnóstico de Tb, por otra parte hay granulomas que son semejantes en otras enfermedades no tuberculosas como la sarcoidosis y la histoplasmosis.

La prueba cutánea con PPD dio algunos falsos positivos en el grupo control y falsos negativos en los casos de TbM. Esto podría deberse a que un tercio de la población mexicana esta infectada por el bacilo de la Tb por lo que le PPD puede ser positivo en la mayoría de los adultos mexicanos indicando infección más no enfermedad, por lo que no se usa para el diagnóstico en la población adulta en nuestro país. Los enfermos con formas diseminadas hematógenas tienen poca inmunidad celular, responden lentamente al tratamiento y pueden ser PPD negativos, puede ser tal la afectación inmunológica que se comportan como anérgicos.⁸

Utilizamos la secuencia de inserción IS6110 porque tiene una sensibilidad y especificidad alta para el diagnóstico de la Tb pulmonar con resultados positivos del 95 al 100% en pacientes con cultivos de LJ positivos para *Mycobacterium tuberculosis*.^{34,52}

Los mejores resultados se obtuvieron con la PCR la cual fue positiva en el aspirado de médula ósea de 21 casos sospechosos, lo que corresponde a una sensibilidad de 70%.

El resultado del PCR puede ser reportado de 5 a 8 días, lo que es muy útil en este tipo de enfermos, ya que debido a la gravedad de la enfermedad se requiere una prueba sensible, específica y rápida para el inicio del tratamiento antituberculoso por la alta morbi-mortalidad.

Capítulo V

CONCLUSIONES

La TbM es un problema clínico importante por la falta de sospecha y la imprecisión del cuadro clínico, lo que suscita errores en su diagnóstico retrasándose el inicio del tratamiento adecuado, que en la actualidad es altamente eficaz, capaz de curar a la mayoría de estos enfermos cuando son diagnosticados a tiempo.

La dificultad diagnóstica de esta entidad se puede deber a una serie de factores como son:

- El espectro clínico radiológico de la tuberculosis en el adulto se ha modificado, apareciendo ahora formas que antes eran privativas de la infancia, como la Tb primaria, la Tb meníngea e incluso la misma TbM, presentándose formas poco usuales.
- En la literatura se mencionan para la TbM factores predisponentes como la infección por el VIH, el tratamiento con esteroides, la insuficiencia renal, lo que suscita que esta forma de tuberculosis no sea sospechada en individuos jóvenes sin factores de riesgo y pasando desapercibida en enfermos con estos factores de riesgo porque muchas de las manifestaciones clínicas de la TbM en estos pacientes son atribuidas a la enfermedad previa y no a la misma TbM.
- Hay casos en que se sospecha la enfermedad, pero se descarta al obtener resultados falsamente negativos de técnicas diagnósticas que no son las adecuadas para este tipo de presentación clínica.

La inespecificidad del cuadro clínico y radiológico de la TbM, nos obliga a mantener un alto índice de sospecha diagnóstica, en países como el nuestro con una alta prevalencia de tuberculosis, con una proporción importante de sujetos con focos caseosos latentes susceptibles de reactivación y diseminación a causa de otros procesos debilitantes, cuya sintomatología enmascara a su vez el cuadro clínico de la TbM.

Solo una alta suspicacia clínica llevará a implementar métodos diagnósticos más eficaces y obtener el máximo rendimiento de los ya disponibles, menos agresivos y más rápidos para poder lograr otorgar un tratamiento oportuno para un mejor control de la Tb.

La realización de PCR en el aspirado de médula ósea resultó ser la prueba de mayor utilidad para identificar la etiología tuberculosa de forma rápida e instituir un tratamiento específico inmediato, aunque un resultado negativo no necesariamente excluye el diagnóstico. La buena respuesta clínica y radiográfica al tratamiento antituberculoso es confirmatoria de la enfermedad.

La tinción de Ziehl-Neelsen, se mantiene como la prueba más sencilla y el cultivo en LJ permite la identificación, tipificación y realización de pruebas de farmacorresistencia del bacilo. La PCR está indicada, particularmente cuando los métodos bacteriológicos dan resultados negativos y la sospecha clínica de TbM es evidente.

REFERENCIAS

1. Raviglione MC, Zinder DE Jr, Kochi A. Global epidemiology of tuberculosis: morbidity and mortality of a worldwide epidemic. *JAMA* 1995; 273:220-6.
2. Raviglione MC, Dye C, Schmidt S, Kochi A. Assessment of worldwide tuberculosis control. *Lancet* 1997; 350:624-9.
3. Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-006-SSA. Para la prevención y control de la tuberculosis en la atención primaria a la salud. Diario Oficial de la Federación. México. Octubre 2000.
4. D.A. Enarson. El desafío de la tuberculosis: manifestaciones acerca de su prevención y control globales. *Lancet* 1996; 28:44-45.
5. Castro Váldez G. "Tuberculosis Extrapulmonar", Tesis de Posgrado, 1997.
6. Sahn SA, Neff TA: Miliary tuberculosis. *Am J Med.* 1974; 56: 495.
7. Jerome H. Miliary Tuberculosis epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, and outcome. *Rev Infect Dis* 1990; 12:583-90.
8. Divinigracia R. Harris HW. Miliary tuberculosis. In: Schlossberg D (ed). *Tuberculosis and non tuberculosis bacterial infections*, 4th ed, WB Saunders, Philadelphia, 1999.
9. Chávez Sánchez R, Báez Saldaña R, Montaña Estrada L. Respuesta Inmune en la tuberculosis. *Rev Inst Nal Enf Resp.* 1997; 10:195-202.
10. Kaplan MH, Armstrong D, Rosen P, et al: complicating neoplastic disease. *Cancer* 1974; 33: 850.
11. Pradhan RP, Katz LA, Nidos BD, et al: Tuberculosis in dialysis *JAMA* 1974; 229:798.
12. Lundin AP, Adler AJ, Berlyne GM, et al: Tuberculosis in patients undergoing maintenance hemodiálisis. *Am J Med* 1979; 67: 597.
13. Sasaki S, Akiba T, Suenaga M, et al: Ten years survey of dialysis-associated tuberculosis. *Nephron* 1979; 24:141.
14. Farga Vitorino. *Tuberculosis*. Ed. Mediterraneo. Santiago de Chile 1992.
15. Young RK. Ocular Tuberculosis. *JAMA* 1991; 266:1490
16. Benzarti M. Abces cérébraux au cours d'une miliare tuberculeuse: a propos d'un cast et revue de la littérature. *Int J Tuberc Lung Dis* 1997; (5):477-481.
17. Köylü R. Unusual miliary tuberculosis presenting with generalized lymphadenopathy and abdominal involvement. *Int J Tuberc Lung Dis* 1997; 5:474-476.
18. Lombard, E.H. Haematological changes associated with miliary tuberculosis of the bone marrow. *Int J Tuberc Lung Dis* 1993; 74:131-35.

19. Laszlo J, Huang AT: Anemia associated with marrow infiltration. In William WJ, Beutler E, Erslev AJ, et al, eds: Hematology, 4th ed. New York, McGraw-Hill, 1990; pp. 546-548.
20. Adamson JW, Erslev AJ: Aplastic anemia. In Williams WJk, Beutler E, Erslev AJ, et al, eds: Hematology, 4th ed. New York, McGraw-Hill, 1990; pp 158-74.
21. Huxley HM, Knox-Macaulay HM. Tuberculosis and the haemopoietic system. *Bailliere's Clin Haematol* 1992; 5: 101-129
22. Singh RM, Singh MM, Lahiri VL, et al: Tuberculosis as a continuing causa of secondary amyloidosis in Northern India. *J Indian Med Assoc.* 1987; 85: 323-332.
23. IpM, Cheng KP, Cheung WC: Disseminated intravascular coagulopathy associated with Rifampicin. *Tubercle* 1991; 72: 291-293
24. Gary Maartens. Miliary tuberculosis: rapid diagnosis, hematologic abnormalities, and outcome in 109 treated adults. *The American Journal of Medicine* 1990; 89:291-96.
25. Surender Kumar. Pulmonary function and immunologic abnormalities in miliary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:1167-71.
26. Kwong S. Miliary tuberculosis. Diagnostic accuracy of chest radiography. *Chest* 1996; 110 (2): 339-43.
27. McGuinness G. High resolution CT findings in miliary lung disease. *J Computer Assist Tomograph* 1992; 16:384-90.
28. Yu Whan Oh. High-Resolution CT appearance of miliary tuberculosis. *J Computer Assist Tomograph* 1994; 18:862-866
29. Collins J. CT Patterns of bronchiolar disease: what is "Tree-in-bud"? *AJR* 1998; 171: 365-70.
30. Veiga G. Miliary Tuberculosis. Autopsy study of 29 cases. *An Med Intern* 1995; 12:17-20.
31. Petham Muthuswamy,MD, FCCP; Tzyy-Chyn Hu, RN, MS. Prednisone as Adjunctive Therapy in the Management of Pulmonary Tuberculosis. *Chest.* 1995; 107 (6):1621-1629.
32. Salazar-Lezama M, Cuadra Cuadra J, Quiroz Rosales H. Correlación adenosindesaminasa/linfocitos en el líquido pleural de origen tuberculoso. *Rev Inst Nal Enf Resp.* 1997; 10:160-163
33. Ortiz Vázquez . Problemas actuales en el diagnóstico de la tuberculosis miliar. *Revista Clínica Española* 1985; 177:425-27.
34. Querol J.M. The utility of polymerase chain reaction (PCR) in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Chest* 1995; 107:1631-35.
35. Leisbinger, F. ¿When should we perform bone marrow biopsy in Patients with miliary tuberculosis?. *Chest* 1995; 108:292-93.
36. Kinoshita M. Re-evaluation of bone marrow aspiracion in the diagnosis of miliary tuberculosis. *Chest* 1994; 106:690-92.

37. Mullis KB. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am* 1990; 262:56-65.
38. N. Bobadilla. *Biología molecular en medicina. V. Reacción en cadena de la polimerasa. Rev Invest Clin* 1996; 48:401-6.
39. Wong CF. Rapid Diagnosis of Smear-Negative Pulmonary tuberculosis via fibreoptic bronchoscopy: Utility of polymerase chain reaction in bronchial aspirates as an adjunct to transbronchial biopsies. *Respiratory Medicine* 1998; 6: 815-9.
40. Ginesu F. Microbiological Diagnosis of Tuberculosis: A Comparison of old and new methods. *J Chemotherapy* 1998; 4:295-300.
41. Nagesh BS, Sehgal S, Jindal SK, Arora SK. Evaluation of polymerase chain reaction for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in pleural fluid. *Chest* 2001; 119:1737-41.
42. Yusuf Akcan. PCR on Disseminated Tuberculosis in Bone Marrow and Liver Biopsy Specimens: Correlation to histopathological and clinical diagnosis. *Scand J Infect Dis.* 1997; 29:271-74.
43. Escobedo Jaimes Laura, Cicero Sabido R, Cueto Robledo. Comportamiento de la Tuberculosis Hematogena en el Hospital General de México. Tesis. 1998
44. Dawson Saunders, Trapo Robert. *Bioestadística Médica. Manual Moderno.* 1993 pp 95-100.
45. Kantor IN, Kim JS, Frieden T, Laszlo A, Luelmo F, Norval P-Y, Rieder H, Valenzuela P, Weyer K. *Laboratory services in tuberculosis control.* World Health Organization, Geneva, 1998.
46. Balandrano Campos S, Anzaldo Flores G, Peña Flores G. *Tuberculosis. Manual de procedimientos de laboratorio INDRE/SAGAR.* Ed. Escobar Gutiérrez A. 1996 pp 34-49
47. Stephen B. Hulley MD, MPH *Diseño de la Investigación Clínica.* Ediciones Doyma. 1993 pp 97-107.
48. Pérez Guzmán C, Vargas M, Torres-Cruz A. Tuberculosis miliar en tuberculosis de reactivación. Informe de 36 pacientes y comparación con formas puras. *Rev Inst Nal Enf Resp.* 1999; 12:19-28.
49. Benckroum A, Lachkar A, Soumana A. Urogenital tuberculosis. 80 cases. *Ann Urol* 1998; 32: 89-94.
50. Hernández-Pando R, Jeyanaathan M, Mengistu G, et al. Persistence of DNA from *Mycobacterium tuberculosis* in superficially normal lung tissue during infection. *Lancet* 2000; 356: 2133-2137
51. Sharma Sk, Mohan A, Pande AV. Clinical profile, laboratory characteristics and outcome in miliary tuberculosis. *QJ Med.* 1995; 12:583.
52. Eisenach KD, Sifford MD, Cave MD, Bates JH, Crawford JT. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum samples using a polymerase chain reaction. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144:1160-63.