

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

**TERMINACION DE ANTIGENO DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EN ORINA
POR EL METODO DE ELISA EN NIÑOS CON DIAGNOSTICO PRESUNTIVO
DE TUBERCULOSIS.**

Estudio Transversal realizado en el Hospital Infantil
de Infectología y Rehabilitación durante los
meses de Marzo y Abril, Ciudad de Guatemala, 1996

TESIS

presentada a la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Ciencias Médicas de la
Universidad de San Carlos de Guatemala

POR

ANA LUCRECIA ROMERO ESCRIBA

En el acto de investidura de:

MEDICO Y CIRUJANO

PROCESADO DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

Guatemala, Julio de 1996

75
(78 86)
C.3

EL DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

H A C E C O N S T A R Q U E:

a) BACHILLER _____ : ANA LUCRECIA ROMERO ESCRIBA

Matr. Universitario No. 90-13950

Presentado para su Examen General Pùblico, previo a optar al Titulo
Médico y Cirujano, el trabajo de Tesis titulado:
TERMINACION DE ANTIGENO DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EN ORINA POR EL
MÉTODO DE ELISA EN NIÑOS CON DIAGNOSTICO PRESUNTIVO DE TUBERCULOSIS

Trabajo asesorado por:
DR. PABLO ANTONIO PACHECO Y MARIO PINTO MANSILLA

Revisado por:
DR. ERWIN RAUL CASTAÑEDA PINEDA

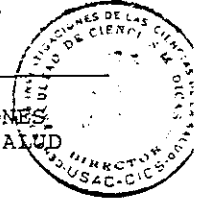
Los señores suscritos lo avalan y han firmado conformes, por lo que se emite, firman
y avalan la presente ORDEN DE IMPRESION.

Guatemala, _____ de 1996.

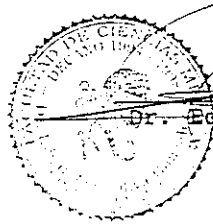
UNIVERSIDAD DE TESTIS



DIRECTOR
CENTRO DE INVESTIGACIONES
DE LAS CIENCIAS DE LA SALUD



IMPRIMASE:



Dr. Edgar Axel Oliva Gonzalez
DECANO

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



Guatemala, 5 de julio de 1996

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Director
RUIZ ESCOBAR
ORDINADOR
Título de Tesis
Presente

Yo informo que el
ANA LUCRECIA ROMERO ESCRIBA

Nombres y Apellidos Completos

Identificación No.: 90-13950; ha presentado el Informe Final de su trabajo de tesis titulado:

DETERMINACION DE ANTIGENO DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EN ORINA POR
EL METODO DE ELISA EN NIÑOS CON DIAGNOSTICO PRESUNTIVO DE TUBERCULOSIS

Yo, como autor, asesor(es) y revisor nos hacemos responsables por el contenido, metodología, confiabilidad y validez de los datos y resultados obtenidos; así como de la pertinencia de las conclusiones y recomendaciones expuestas.

Firma del Estudiante

f.: Asesor
Nombre Completo y Sello Profesional

f.: Revisor
Nombre Completo y Sello Profesional
Reg. de Personal: 12189

MEDICO Y CIRUJANO
COLEGIADO No. 1731

Dr. PABLO ANTONIO PACHECO SOLIS
MEDICO Y CIRUJANO
COLEGIADO 5694

Dr. E. Raúl Costarrudo Jimeno
MEDICO Y CIRUJANO
Colegiado No. 3,397



DE CIENCIAS MEDICAS
LA, CENTRO AMERICA

Of. APR- UT-16-96

Guatemala, 5 de julio de 1996

LLER:
UCRECIA ROMERO ESCRIBA
TAD DE CIENCIAS MEDICAS
nte.

ste medio hago de su conocimiento que su Informe Final de Tesis,
ado DETERMINACION DE ANTIGENO DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EN URINA POR
ODO DE ELISA EN NIÑOS CON DIAGNOSTICO PRESUNTIVO DE TUBERCULOSIS

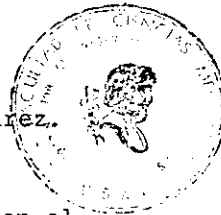
do **RECIBIDO**, y luego de revisado se ha establecido que cumple con
equisitos contemplados en el reglamento de trabajos de tesis; por
ue es autorizado para completar los trámites previos a su
ación.

tro particular me suscribo de usted.

tuosamente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Dr. Carlos Humberto Escobar Juárez.
COORDINADOR



La información y conceptos contenidos en el
presente trabajo es responsabilidad única del
autor.

INDICE

| | | |
|-------|------------------------------------|----|
| - | Introducción | 2 |
| .- | Definición del Problema | 4 |
| I.- | Justificación | 5 |
| .- | Objetivos | 6 |
| - | Revisión Bibliográfica | 17 |
| .- | Metodología | 21 |
| I.- | Presentación de Resultados | 30 |
| II.- | Análisis y discusión de Resultados | 35 |
| III.- | Conclusiones | 36 |
| - | Recomendaciones | 37 |
| IV.- | Resumen | 40 |
| V.- | Anexos | 43 |
| VI.- | Referencias Bibliográficas | 48 |

INTRODUCCION

La Tuberculosis sigue siendo un problema mundial, que por su parte afecta mayormente a los países en vías de desarrollo como nuestro; esta continúa siendo un problema importante a pesar de la quimioterapia preventiva; pues durante los años de 1987 a 1990 aumentaron en niños mayores de 5 años los casos de Tuberculosis en un 39% en los Estados Unidos. Este aumento muestra signos de fallas en el sistema de salud, en el cual estos niños representan una reciente transmisión de la enfermedad, por adultos que están contagiados; por lo que es importante detectar y tratar adecuadamente a estas personas. (6,22) Se estima que cada año en todo el mundo hay aproximadamente 1.3 millones de casos de Tuberculosis en niños y jóvenes menores de 15 años, que resultan en 100,000 muertes anuales. Un gran porcentaje de los casos pasa desapercibido por la pobre sensibilidad de las pruebas o métodos diagnósticos que tenemos disponibles, ya que a pesar de que el método de esputo en adultos identifica a un 75%, en niños es menor: del 20% los que encontramos con un cultivo positivo. (6)

Por lo que arriba mencionamos surge este trabajo, para ayudar a encontrar nuevos métodos diagnósticos para Tuberculosis en niños, en quienes como hemos visto el diagnóstico es más difícil de realizar; pues está comprendido o basado en una serie de criterios (radiografía de tórax, cultivo de aspirado gástrico o de esputo, historia clínica, sintomatología, PPD, etc.), y en base a una puntuación que se da a cada criterio, es que el Centro de Referencia de Tuberculosis Infantil (Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación) se determina si un niño es tuberculoso o no en nuestro País. (15)

La técnica o Método de ELISA ha sido ampliamente utilizada en todo el mundo, para hacer diagnóstico o determinación tanto de antígenos como de anticuerpos en: suero, saliva, líquido pleural,

orina, líquido cefalorraquídeo y peritoneal, y heces; pero no se pudo utilizar para determinar antígenos ó anticuerpos tuberculosos, sino también de otros virus y bacterias. (1,5,6,7,8,17,18,19,20,25,29,30,31,33,34,35,36,37,38)

Y se escogió esta, por haber sido ya ampliamente utilizada en varias ocasiones en Guatemala para la determinación de antígenos tuberculosos en: orina, suero y saliva, en las que alcanzó una buena sensibilidad y especificidad (en suero: 100% tanto de especificidad como de sensibilidad, en saliva: 80% de especificidad y 60% de sensibilidad, y en orina: 100% de especificidad y 47% de sensibilidad). (5,8,19,20)

En este estudio no se pudo valorar categóricamente la sensibilidad y especificidad de la prueba de ELISA en Orina, debido a que solo el 50% de los pacientes con diagnóstico de Tuberculosis fueron reportados positivos en ELISA en suero, y de quienes solo fueron reportados el 32% de los cultivos de aspirado gástrico ó esputo hasta la fecha, y estos se encontraban negativos; así que basados en ambas pruebas, ya que en niños no existe una prueba que sea el estándar de oro como en adultos, concluimos que a pesar de que en el Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación se basan en una tabla de criterios que ya ha sido ampliamente estudiada en México y Estados Unidos, para hacer el diagnóstico en dicho Centro Asistencial, este no es un diagnóstico certero, sino más bien presuntivo de Tuberculosis. Aún así los resultados obtenidos nos dieron una sensibilidad de 24% y una especificidad de 90%, y por los factores ya mencionados no pudimos comprobar la verdadera utilidad de la prueba de ELISA en Orina como un coadyuvante en el diagnóstico de tuberculosis en niños; pero sí pudimos comprobar que no es necesaria una Tuberculosis Miliar ó Renal para encontrar antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* en orina. (19)

DEFINICION DEL PROBLEMA

La tuberculosis es llamada junto con la desnutrición las enfermedades sociales, son las más expandidas en el planeta, debidas as fundamentalmente a problemas socioeconómicos. (10,24,26)

En poblaciones de riesgo considerable como son los niños, los cuales pueden presentar factores predisponentes, tienen una alta probabilidad de ser afectados por la Tuberculosis.

La mitad de la población mundial ha sido infectada por la Tuberculosis, más de la mitad de la población mundial vive en pobreza. En Guatemala donde se mantienen estas mismas circunstancias a nivel nacional se ha tenido una mortalidad general hasta de 77 por 100,000 habitantes; gran porcentaje de ellos son niños. (15)

El diagnóstico temprano, el tamizaje a cualquier nivel de atención, el tratamiento temprano y oportuno pueden significar salvar la vida de un niño; pero debido a la pobreza institucional muchas veces los métodos complementarios de diagnóstico no están disponibles por razones económicas ó de accesibilidad al servicio de salud (radiografía, cultivos, broncoscopia).

Muchas veces por razones propias del paciente se ven obstruidas estas (por ejemplo difícil de obtener una muestra para cultivo de esputo y/ó no es bacilífero), por lo que en otros lugares en el mundo han utilizado pruebas inmunológicas con resultados aceptables, aquí ha tenido buena participación el ELISA en: suero, saliva, líquido pleural y cerebroespinal, en orina se cree que no es necesario que exista enfermedad Renal ó Miliar para poder encontrar el Antígeno de Mycobacterium Tuberculosis en ella, por lo que se vislumbra como una opción rápida, barata y sencilla de recolec-

tar. Esto es basado en resultados obtenidos del estudio realizado en orina de pacientes con Tuberculosis Pulmonar, Hospitalizados en el Hospital San Vicente, en la ciudad de Guatemala de 1995. (1,7,8,18,19,20)

JUSTIFICACION

El diagnóstico de la Tuberculosis es un reto para el médico. La tuberculosis es una enfermedad que puede tener manifestaciones clásicas ó parecer como una gran imitadora.

La Tuberculosis es una enfermedad endémica en Guatemala, un país donde los factores condicionantes de esta enfermedad abundan, en la cual la población más susceptible de padecerla está comprendida entre los menores de 14 años y mayores de 65 años.

Este estudio surge de la inquietud de encontrar un método de diagnóstico rápido y barato, cuya muestra sea fácil de tomar; para así contribuir al diagnóstico de Tuberculosis en niños que es uno de los grupos más susceptible de padecerla y en quienes el diagnóstico es difícil de realizar, el cual debe de ir apoyado en: antecedentes de exposición directa a sujeto con Tuberculosis, radiografía X de tórax, tuberculina positiva, y examen físico. (5,6,8,15,

Por ello apoyados en la inmunología surgió el método de ELISA que ha sido ampliamente utilizado en todo el mundo para la detección de antígenos en: suero, saliva, líquido pleural, líquido cefalorraquídeo y en orina. (1,2,3,5,17,18,20,25,29)

Y se ha escogido validar la prueba en orina, al demostrar su sensibilidad y especificidad en niños, por ser una prueba cuya muestra es fácil de obtener, y que anteriormente en adultos obtuvo una buena especificidad(100%) y una moderada sensibilidad(47%).

5.-

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

IV.-

OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL:

Valorar la sensibilidad y especificidad del Método de ELISA para medir el antígeno de *Mycobacterium Tuberculosis* en orina de niños con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis; niños sanos, atendidos en el Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación, en la ciudad de Guatemala, Marzo de 1996.

REVISION BIBLIOGRAFICA

DEFINICION:

La Tuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica, causada por micobacterias del complejo tuberculosis, principalmente de los tipos: M. Tuberculosis y M. Bovis. Son factores predisponentes: hacinamiento, bajo nivel socioeconómico, desnutrición, inmunodeficiencia, etc. Los pulmones son los órganos más afectados. (15,)

ISTORIA:

Conocida desde los griegos, quienes fueron los primeros en explorar a sus enfermos y recoger datos sobre sus síntomas, llamada Tisis por Hipócrates; y considerada por Galeno como una enfermedad que producía úlceras en los pulmones (tumor), que se transmitía de una persona a otra. Al surgir la revolución industrial, se crearon grandes ciudades, con las que surgieron: pobreza, malas condiciones higiénicas, hacinamiento, desnutrición, etc.; produciéndose un ambiente propicio para el gran desarrollo de la enfermedad, la cual primero se convirtió en una epidemia, para tornarse luego en pandemia. (10,15,28)

En 1869 Richard Morton la llamó Tuberculosis; y en 1882 Koch por inoculación, cultivo y tinción, aisló el microorganismo causal (M. Tuberculosis) estableciendo con ello las bases científicas de la bacteriología de las enfermedades transmisibles; introdujo también la tuberculina, permitiendo el inicio del conocimiento de la inmunología esencial para el estudio de esta enfermedad. En 1897 Ruggie demostró que se transmitía a través de las gotas de saliva de la expectoración de los pacientes. Al finalizar el siglo XIX Honan describe la adenopatía hilar unida a la lesión parenquimatosa pulmonar; en 1908 se aplica por primera vez el Mantoux, y en 1921 Calmette y Guérin desarrollaron la vacuna BCG; se inicia en-

tonces la búsqueda de los tratamientos más efectivos, dando lugar al inicio de la quimioterapia en 1945 con el descubrimiento de la estreptomycinina por Waksman; en 1946 Lehman descubre el ácido paraaminosalicílico; Chorino en el mismo año descubre la isoniacida; hasta que en 1952 se inicia la utilización de la combinación de medicamentos como tratamiento antituberculoso, en este año se descubre también la pirazinamida; en 1961 surge el etambutol; en 1962 la capreomicina y la kanamicina; y en 1968 la rifampicina por Mebe y Loria. (10,15,28)

ETIOLOGIA:

Es producida por el bacilo tuberculoso, un miembro de la familia mycobacteriaceae, orden actinomycetales. Existen como patógenos humanos otras mycobacterias llamadas "anónimas ó atípicas". (11,24)

Todas las mycobacterias son bacilos aerobios, inmóviles, no esporulantes y pleomórficos. Son difíciles de teñir por el alto contenido en lípidos de sus paredes celulares, y una vez teñidos resisten la decoloración con ácido - alcohol, motivo por el cual son descritos frecuentemente como ácido - alcohol resistentes. técnica de Ziehl-Neelsen tiñe a los bacilos de rojo con colorante de carbolfucsina, de tal manera que pueden ser identificados bajo inmersión en aceite (100X) contra un fondo teñido de azul de metileno. (11,15,26)

Los microorganismos de M. Tuberculosis son de crecimiento lento; el tiempo medio de recuperación es de 21 días, y algunos requieren entre 4 y 6 semanas. El crecimiento es óptimo cuando se utilizan medios selectivos incubados en condiciones aerobias de 37 grados centígrados en una atmósfera enriquecida de anhídrido carbónico. (11,15,26)

El M. Tuberculosis se diferencia de otras micobacterias por

morfología de su colonia, la ausencia de pigmento, la presencia de la catalasa termolábil, y la sensibilidad a la isoniacida. (1,14,15,26,28)

ETIOLOGIA:

La principal vía de infección es la inhalación de gotitas con bacilos. La leche de vacas tuberculosas constituye una fuente de infección, en lugares en donde no está bien controlada la tuberculosis de los bovinos y no se pasteuriza la leche. Las gotitas de secreciones pulmonares aerolizadas, producidas por la tos y el estornudo, o al cantar, son lo suficientemente pequeñas como para permanecer suspendidas en el aire, y para atravesar la barrera del aparato respiratorio, alcanzando los bronquiolos terminales y los alveolos. Aunque las secreciones genito-urinarias de los individuos infectados pueden contener microorganismos, la transmisión de la aerolización de la orina es rara. (10,11,14,15,24,26)

INMUNOLOGIA:

Después de inhaladas las gotitas contaminadas (con microorganismos viables) se inicia una respuesta inmunitaria celular; los macrófagos pulmonares ingieren los bacilos, pero son incapaces de destruirlos, y los bacilos proliferan. A continuación se propaga la infección a los ganglios linfáticos regionales, produciéndose desde allí la diseminación linfática y hematológica, y el establecimiento de muchos focos extrapulmonares infectados. (11,26)

Aunque los macrófagos pulmonares no destruyen a los bacilos viables, son capaces de procesar los antígenos micobacterianos y presentarlos a los linfocitos T circulantes, que son activados por los antígenos. Estos linfocitos T proliferan y circulan por todo el sistema linfático y producen diversos mediadores solubles, como las citocinas, y estas atraen a los linfocitos circulantes y a los macrófagos, a los sitios de interacción linfocito-antígeno, activa a los macrófagos, e incrementan de esta manera la destrucción intra-

celular de los microorganismos ingeridos y la diferenciación de los macrófagos pulmonares en células epiteloides y fibroblastos. En presencia de numerosos bacilos tuberculosos los linfocitos activados pueden producir también sustancias citotóxicas que junto con las enzimas hidrolíticas liberadas de los macrófagos pulmonares vivos y muertos, ocasionan necrosis incompleta ó caseificación. En los pulmones, la licuefacción de este material caseoso puede ocasionar la formación de cavidades y un incremento masivo en el número de bacilos tuberculosos. Normalmente, estos procesos ocurren a lo largo de un período de 6 a 10 semanas y son capaces de contener la infección y eliminar los focos metastásicos. (10,11,15,24,26)

CUADRO CLINICO:

La primoinfección de tuberculosis puede manifestarse en forma muy diversa, lo que depende de la edad del niño, puerta de entrada y reacción orgánica individual frente a la agresión bacteriana, complicaciones inmediatas y modificaciones inmunológicas que originan la hipersensibilidad tardía. La primoinfección puede ser pulmonar ó extrapulmonar, y ambas cursar asintomáticas. (15)

- Primoinfección Inaparente ó Latente:

Forma clínica propia del niño en edad escolar; cuyo único signo es el viraje tuberculínico, que de negativo se hace positivo sin mediar una vacunación con BCG. La mayor parte de las veces el diagnóstico se plantea en forma accidental. Todos los exámenes clínicos, radiológicos, bacteriológicos, etc., son negativos, pero pueden evolucionar hacia cuadros sintomáticos, por lo que es indispensable un control estricto y periódico de estos pacientes. (15,26)

-Primoinfección Sintomática:

Hay signos y síntomas inespecíficos, pero manifiestos, como fiebre, astenia, anorexia, palidez, tos etc. También es posible el aislamiento del bacilo de Koch. Las complicaciones de la infección primaria son: Pleuresía con derrame, enfermedad miliar, me-

gitis, enfermedad ósea y articular e infección primaria progresiva. (15,26,28)

tuberculosis de Reactivación:

Enfermedad en adultos, que se produce por la reactivación de nodos inactivos en las porciones posteriores de los lóbulos superiores sembrados por el torrente sanguíneo. (10,28)

EBAS DIAGNOSTICAS:

Es importante realizar un diagnóstico rápido y correcto de la tuberculosis, para poder iniciar rápidamente una terapia adecuada, a lo cual se han creado varios métodos:

Tuberculina:

Prueba cutánea que se basa en la detección de hipersensibilidad retardada frente a antígenos de M. Tuberculosis, la cual es fiable. Un paciente infectado responde positivamente a las 6-10 semanas de la infección. La prueba está constituida por un preparado de antígeno que se administra por vía intradérmica; la respuesta positiva viene indicada por la aparición de una induración, que es el resultado de la migración de macrófagos y linfocitos activados al sitio de depósito del antígeno. Se dispone de dos preparados: tuberculina vieja y el derivado proteico purificado. (26)

Punciones Múltiples:

Prueba cutánea que ha sido utilizada con éxito para el diagnóstico en masa de pacientes pediátricos; estas pruebas son sensibles pero carecen de especificidad. (26)

Muestras:

Consisten en esputo fresco, lavados gástricos, líquidos pleurales, líquido cefalorraquídeo y sinovial, tejido obtenido por biopsia o cualquier otro material sospechoso. (11)

- Frotis Teñido:

El esputo ó sedimento de lavados gástricos, orina, exudados y otros materiales se tiñen para observación de bacilos acidorresistentes para la técnica de Ziehl-Neelsen, ó por microscopía con fluorescencia por tinción con auramina-rodamina.

- Cultivo:

Se puede cultivar directamente orina, líquido cefalorraquídeo, y materiales no contaminados por otras bacterias. La incubación de los medios inoculados se prolonga más de ocho semanas.

(11)

- Rayos X:

La radiografía de tórax proporciona la imagen de la zona afectada, pero no confirma el diagnóstico de infección por micobacterias, pues puede confundirse con otras lesiones pulmonares crónicas, razón por la cual debe correlacionarse este hallazgo con la historia clínica, antecedentes y otros datos clínicos. (11,26)

- El Método de ELISA:

El método de ELISA (enzyme linked immunoabsorbant assay ó análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas), puede ser empleado para medir antígenos marcados. (8) Es un nuevo procedimiento no competitivo conocido, que aumentará la importancia de el laboratorio clínico. Técnica de ELISA puede ser utilizada para medir tanto anticuerpos como antígenos, unidos a una fase sólida media y todavía tener inmunorreactividad. Las dos técnicas principales usadas son la Técnica de doble anticuerpo, para la detección de antígenos y el Método Indirecto, para la detección de anticuerpos. Este análisis ha sido utilizado para identificar una gran variedad de antígenos infecciosos, por ejemplo: virus, hongos y parásitos. (13,16,17)

La saturación de anticuerpos con participación de una liganda; el anticuerpo se dirige contra la inmunoglobulina de la especie y se ha inmunizado con el antígeno que se va a determinar para que

anticuerpo sea detectado. Para medir anticuerpos, el antígeno se fija a una base sólida, se añade una solución de prueba que tiene antígeno, luego se añade el sustrato ó se relaciona la actividad enzimática con la concentración del antígeno. (7,8)

Las enzimas que han sido usadas con frecuencia incluyen: pectinasa del rábano, fosfatasa alcalina, lisosimas, beta-D-galactosidasa y glucosa 6-fosfato deshidrogenasa; esta enzima se acopla a los antígenos ó los anticuerpos, mediante agentes y enlace cruzados, particularmente el flutaraldehído y la demalimida. Virtualmente cualquier enzima puede ser utilizada mientras sea soluble, estable y esté presente en los líquidos biológicos en cantidades que pudieran inferir con la determinación en el suero, esta puede ser determinada por fotometría, prueba que se dará por positiva si el sustrato es degradado por la enzima que se encuentra unida al complejo, produciendose cambios de coloración. (7,8)

Este método ha sido utilizado para buscar anticuerpos y antígenos en suero, saliva, líquido pleural, líquido cefalorraquídeo y en orina. (1,2,3,5,8,17,18,20,25,29)

LISA en suero:

La detección de antígenos y anticuerpos en suero fué utilizada por primera vez en 1971 y su mayor problema fué la reacción cruzada. (5,8) Se ha utilizado en muchos lugares del mundo, para medir tanto antígenos como anticuerpos, como también aquí en nuestro país, utilizando una variación de la técnica, realizada en el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos, de Guatemala, que consiste en absorber la muestra al pozo de polietileno con amortiguador carbonato - bicarbonato, a un PH de 9.6, se le agrega el suero de cabra anti - BCG y luego se adiciona suero de cabra anti - conejo ligado a fosfatasa alcalina y posteriormente se le agrega el sustrato (esterres de fosfato), esta técnica se ha utilizado en suero, alcanzando una especificidad y sensibilidad de 100 %. Fué utilizada en 1988, en

niños de 2 a 6 años, en la cual a pesar de que la muestra no fué aleatoria tuvo una sensibilidad y especificidad del 100%. También se utilizó en 1993 en pacientes adultos del Hospital San Vicente con diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar, de 14 a 65 años, toman también 14 controles negativos, la cual también reportó una sensibilidad y especificidad de 100%. Se ha comprobado en base a estos estudios que esta prueba varía paralelamente al tiempo de tratamiento del paciente, demostrándose que disminuye las titulaciones de anticuerpos en suero entre la segunda y tercera semana de tratamiento, pues en los estudios anteriores se tomaron muestras durante cuatro semanas a los pacientes. (5,8,19)

- ELISA en Orina:

La prueba de ELISA en Orina se ha utilizado ampliamente en todo el mundo para realizar determinaciones de:

Se ha utilizado la prueba de ELISA para la identificación y verificación de esteroides anabólicos en sangre y orina de caballo encontrándose una sensibilidad de 26+/-3.0. En este estudio las muestras de orina fueron determinadas directamente después de su dilución. Y se ha podido detectar la presencia de estos esteroides luego de haber sido el caballo tratado con los mismos, en sangre hasta 28 días después de la aplicación y en orina hasta 56 días después. (30)

Se ha demostrado previamente que el tracto urinario contiene una glicoproteína única, parece tener una función en el aclaramiento de la bacteria patogénica. Esta glicoproteína es medida en cantidad por el Método de ELISA, ya que según estudios provee de una buena herramienta bioquímica e histoquímica para la investigación de la escalera de mucina tanto en sanos como en enfermos del tracto urinario. (31)

Al utilizar la inmunofluorescencia indirecta de coloración

anticuerpos (ELISA), se ha podido detectar microsporidia, enterococcos con bienensui y septata intestinalis en orina. (32)

Se ha utilizado el Método de ELISA, para medir la excreción urinaria de albúmina, pues ha sido propuesto que el aumento en el grado de excreción urinaria de albúmina es un marcador de riesgo y predictor de enfermedad cardiovascular en sujetos no diabéticos.

)

También se ha utilizado el Método de ELISA para la detección anticuerpos del virus de inmunodeficiencia humana en orina, y en suero. En este estudio se utilizaron 139 muestras de sangre y orina que mostrarán 15 muestras de sangre y orina fuerón positivas para anticuerpos HIV-1 con ambas pruebas SUDS test y ELISA. Constatando que es una prueba fácil de realizar y apropiada para examinar algunas muestras en determinada situación. (34)

Se utilizó para medir ó detectar interleukina-2, receptor de interleukina-2, y niveles de factor de necrosis tumoral, en pacientes inmunizados con BCG, que después de 6 semanas con terapia con BCG persistían con vesícula superficial; cuyos resultados reportaron que los niveles de interleukina-2, receptor de interleukina-2, factor de necrosis tumoral, aumentaron considerablemente después de la terapia con BCG, lo que nos provee de amplia evidencia para las bases inmunológicas del mecanismo de acción de la terapia BCG intravesical. (35)

En un estudio realizado en Nueva Guinea, se realizó cultivo en agar sal para detectar Haemophilus Influenzae, y en muestras de orina de los mismos niños se buscó polisacáridos para Haemophilus Influenzae por ELISA, dando 9 cultivos positivos y 11 orinas positivas, en niños sanos de países desarrollados, convirtiendolos en portadores sanos de Haemophilus Influenzae. (36)

La técnica tipo sandwich de ELISA, se utilizó para la cuantificación de IgA en saliva, orina y heces de niños de diferentes condiciones antigénicas, según su exposición. (37)

Se ha medido la presencia de antígenos en orina de recién nacidos asintomáticos para Citomegalovirus, mostrando que es una prueba sensible (70 %) y específica (94 %). (38)

Según Nelson las secreciones genito-urinarias de los individuos infectados pueden contener microorganismos (M. tuberculosis) y la transmisión tras la aerolización de la orina es rara, pero puede ser posible. (26) Y según los hallazgos encontrados en una Tesis de 1989 realizada por un estudiante de la Universidad Francisco Marroquín sobre afección del tracto urinario por Mycobacterium tuberculosis en pacientes adultos hospitalizados por Tuberculosis Pulmonar, refiere en la patogénesis que el bacilo tuberculoso de la sangre es filtrado por el glomérulo, donde forman pequeñas lesiones granulomatosas ó no, reacción que puede resolverse táneamente. Según Feilbogen es el riñon el sitio principal por su elevado riego sanguíneo y presión de oxígeno que posee. En este mismo estudio se dice que la tuberculosis de las vías urinarias es una enfermedad predominantemente de pacientes jóvenes, y que pueden pasar desde un mes hasta treinta y seis años desde el inicio de los síntomas hasta llegar al diagnóstico definitivo, y en quienes la mayor parte son asintomáticos y su diagnóstico es bacteriológico. Demostrándose en este estudio que el 81 % de los cultivos de sedimento urinario son positivos para M. tuberculosis, sobre todo si se trata de la primera orina de la mañana, haciéndose cada día menos importante efectuar tinciones para bacterias ácido-alcohol resistentes del sedimento urinario, por su pobre especificidad y sensibilidad; en los cuales las bacterias contaminantes del tipo M. Smegmatis, M. Bovis, M. Kansasi, son indistinguibles de M. Tuberculosis. Es interesante ver que en este estudio el 10 % de los pacientes con diagnóstico reciente de Tuberculosis Pulmonar activ

en de alguna afección del tracto urinario. (23)

Con lo anteriormente dicho queda demostrado que no es necesario que exista Tuberculosis Renal ó Miliar para tener la presencia de baciliferas en orina.

Se realizó en Junio y Julio de 1995 un estudio para determinar la sensibilidad y especificidad del método de ELISA en Orina de pacientes con diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar del Hospital Vicente, comprendidos entre las edades de 14 a 65 años; a quienes se tomó la muestra de orina y se procesó en el Laboratorio Multidisciplinario según la técnica anteriormente mencionada; utilizando también controles de una zona marginal, adultos con las mismas características. Reportó que tuvo una sensibilidad de 47 % y una especificidad de 100 %. Se realizó el estudio en 55 pacientes, estudiantes de Tercer Año de la Facultad de Ciencias Médicas a Universidad de San Carlos de Guatemala, bajo la supervisión del Dr. Mario Pinto. En este trabajo se comenta que la técnica no da una sensibilidad mayor del 50 % posiblemente debido a que los bacilos pueden ser filtrados al ser centrifugada la muestra de orina; y que también no se utilizó el sobrenadante pueden haber quedado allí los lípidos y ceras del M. Tuberculosis ; ó por difusión de la orina a pesar de centrifugarla; también podría haber ocurrido que sólo se utilizaron pacientes con Tuberculosis Pulmonar y la semana de tratamiento, que los pacientes se encontraban en la toma de la muestra. Se recomienda en este estudio esta técnica por la facilidad para obtener las muestras y realizarla en niños que no son bacilíferos. (20)

El estudio a realizar es de tipo transversal en el que se apreciará el comportamiento de la prueba de ELISA en niños sanos en niños con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis.

La población en estudio serán 31 niños con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis, según los criterios utilizados en el Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación (ver criterios en anexos); con pacientes hospitalizados en dicho Centro Asistencial ó vistos por la Consulta Externa.

Los criterios de **INCLUSION**: son todos aquellos pacientes con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis Pulmonar o Extrapulmonar, menores de 12 años, tratados en el Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación, de ambos sexos (masculino ó femenino), con menos de cuatro semanas de tratamiento, que tanto el niño como sus padres deseen colaborar en el estudio.

Los criterios de **EXCLUSION**: son que no tengan diagnóstico presuntivo de Tuberculosis, que sea mayor de 12 años, que tenga más de cuatro semanas de tratamiento, y que no deseen colaborar en el estudio, tanto el niño como sus padres.

Se utilizarán 25 niños sanos como controles, los cuales deberán tener los siguientes requisitos: BCG previa, PPD menor de milímetros, asintomáticos y sin contactos tuberculosos.

I.- VARIABLES ESTUDIADAS:

| VARIABLE | DEFINICION TEORICA | DEFINICION OPERATIVA | ESCALA |
|----------|-----------------------------|----------------------|--------|
| Edad | Tiempo Cronológico de vida. | años | Cont |
| Sexo | Características Inna- | Masculino-Femenino | Nomi |

| TABLE | DEFINICION TEORICA | DEFINICION OPERATIVA | ESCALA |
|---|--|--|----------|
| previa | Inmunización con BCG. | Presencia de cicatriz(en brazo sí ó no) ó Antecedentes de vacunación(car-net sí ó nó). | Nominal |
| o de Tu- culosis. | Localización de la In- fección. | Pulmonar ó Extrapul- monar. | Nominal |
| ación del tamien- to itubercu- o. | tiempo calendario de tratamiento antitu- berculoso. | Semanas(primer, se- gunda, tercera y cuarta.). | Continua |
| SA | Determinación de anti- geno. | Laboratorio(densidad Optica). | Continua |
| isibilidad | Capacidad de detectar a los verdaderamente enfermos. | Porcentaje | Continua |
| pecifici- d | Capacidad de detectar como sanos a los que verdaderamente lo es- tan. | Porcentaje | Continua |

Se utilizará como estándar de oro, para ayudar a comprobar la sensibilidad y especificidad del Método de ELISA en Orina de niños y niños con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis, el ELISA suero(prueba de oro). Aunque se sabe que el estándar de oro es cultivo de esputo, debido a que en los niños la muestra es difícil de tomar y no son bacilíferos; ya que según revisiones personales realizadas en la Dirección General de Servicios de Salud de todos los cultivos de esputo y lavados gástricos enviados el año pasado, solo el 11% fueron positivos, porcentaje que es importante considerar, ya que aún en los mejores laboratorios, la positividad de los cultivos en niños difícilmente pasa del 20%. Por lo que utilizaremos el ELISA en sangre de pacientes con diagnóstico presuntivo de tuberculosis y niños sanos, a quienes se les tomarán ambas muestras(sangre y orina); pues estudios anteriormente realizados en niños y adultos, han demostrado una alta sensibilidad(100%) y espe-

cificidad(100%) al medir antígenos para Mycobacterium Tuberculosis en sangre y por ello servirá de parámetro comparativo.

La muestra será de 31 pacientes con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis, y se utilizarán 25 niños sanos como controles. La muestra será pequeña debido al costo del material y a los escasos recursos humanos del Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, pues deben también procesar muestras de otras instituciones.

II.- RECURSOS:

1.- Materiales y Métodos:

- a.- Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación.
- b.- Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos.
- c.- Muestras de orina y sangre de 31 pacientes con diagnóstico Presuntivo de Tuberculosis y 25 niños sanos(controls).
- d.- Materiales para ELISA:
 - 6l placas de polietileno para microtitulaciones.
 - Conjugado de cabra anti-conejo
 - Solución de Lavado(NaOH).
 - Suero de conejo anti-BCG.
 - Sustrato(esteres de fosfato).
 - Solución de Parada.
- e.- Equipo de Laboratorio: pipetas, tubos de ensayo, gradillas, centrifuga, espectrofotómetro, mezcladores, congelador, refrigerador, incubadora, recipientes herméticos, papel mayordomo.
- f.- 6l frasquitos de vidrio para recoger las muestras de orina sangre.
- g.- Hielera para transportar las muestras.
- h.- Fichas clínicas de los pacientes seleccionados.
- i.- Boleta de Recolección de datos.
- j.- Materiales de Escritorio: lápiz, papel, calculadora, etc.

. Libros y Revistas de Consulta.

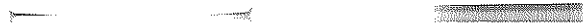
Humanos:

- Personal del Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos.

Se hará una visita a las salas de consulta externa y encamamento del Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación, en donde se tomarán a cada paciente y a cada niño sano, una muestra de orina de aproximadamente 50ml, y una muestra de sangre de aproximadamente 3ml; las que serán transportadas en un recipiente debidamente cerrado y rotulado, en cadena de frío hacia el Laboratorio Multidisciplinario, en donde después de centrifugarlas se obtendrá de las muestras de orina el sobrenadante y el sedimento, y de las muestras de sangre el suero; se almacenarán en pequeños frascos de vidrio, en el congelador a -70 grados F hasta completar 56 muestras, para luego procesarlas.

Se procesarán las muestras obtenidas, examinándolas según la técnica mencionada en la revisión bibliográfica, pero además se examinará el sobrenadante de la orina, junto con el sedimento, para disminuir así el riesgo de falsos negativos; posteriormente se leerán con el espectrofotómetro las muestras, en índices de densidad óptica. Se tabularán los datos de cada prueba, y se hará la especificidad y sensibilidad en base a una tabla tetracórcia, para luego comparar los resultados de pacientes con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis con niños sanos.

PRESENTACION DE RESULTADOS



- TABLA No. 1;

Determinación de Antígeno de Mycobacterium Tuberculosis en orina por ELISA según sexo, en 31 pacientes con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis y 25 pacientes sanos, atendidos en HIIR, Guatemala, 1996.

| PACIENTES | | |
|-----------|----------------------------|-------------|
| SEXO | con diagnóstico presuntivo | Niños Sanos |
| Masculino | 19 | 17 |
| Femenino | 12 | 8 |
| Total | 31 | 25 |

Fuente: Boleta de Recolección de datos.

- TABLA No.2:

Determinación de Antígeno de Mycobacterium Tuberculosis en orina por ELISA según grado de induración de prueba de Mantoux, en 31 pacientes con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis y 25 pacientes sanos, atendidos en HIIR, Guatemala, 1996

| TECNICA DE MANTOUX | | |
|--------------------|-------|-----------|
| Induración en mm | Sanos | Pacientes |
| Menor de 10 mm. | 25 | 11 |
| De 10 a 20 mm. | 0 | 15 |
| Mayor de 20 mm. | 0 | 1 |
| Desconocido | 0 | 4 |

Fuente: Boleta de Recolección de Datos.

Nota: HIIR (Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación)

ABLA No. 3:

eterminación de Antígeno de Mycobacterium Tuberculosis en orina
r ELISA según edad, en 31 pacientes con diagnóstico presuntivo
Tuberculosis y 25 pacientes sanos, atendidos en el HIIR, Guate-
la, 1996.

| EDAD | | |
|------------------|-------|-----------|
| Edades | Sanos | Pacientes |
| Menores de 1 año | 2 | 2 |
| De 1 a 5 años | 13 | 11 |
| De 5 a 10 años | 7 | 10 |
| De 10 a 15 años | 3 | 8 |
| Total | 25 | 31 |

nte: Boleta de Recolección de datos.

ABLA No. 4:

eterminación de Antígeno de Mycobacterium Tuberculosis en orina
or ELISA según Inmunización previa con BCG, en 31 pacientes con
iagnóstico presuntivo de Tuberculosis y 25 pacientes sanos,
tendidos en el HIIR, Guatemala, 1996.

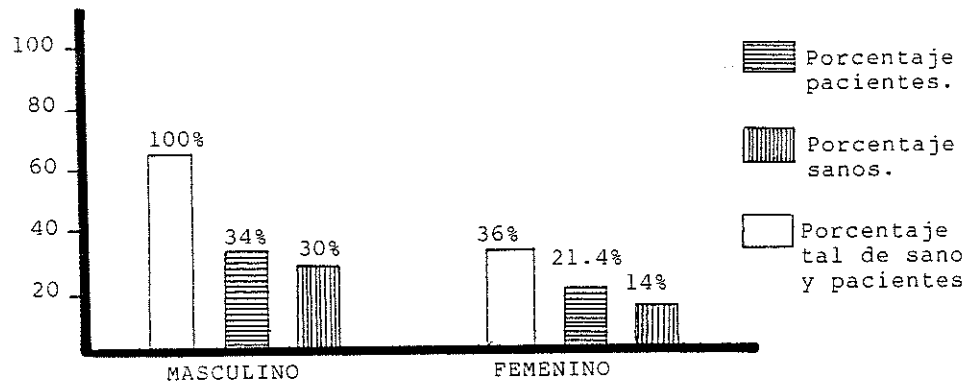
| B C G | | |
|--------------|-------|-----------|
| Inmunización | Sanos | Pacientes |
| SI | 25 | 20 |
| NO | 0 | 11 |
| Total | 25 | 31 |

ente: Boleta de Recolección de datos.

ta; HIIR (Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación)

- GRAFICA No 1:

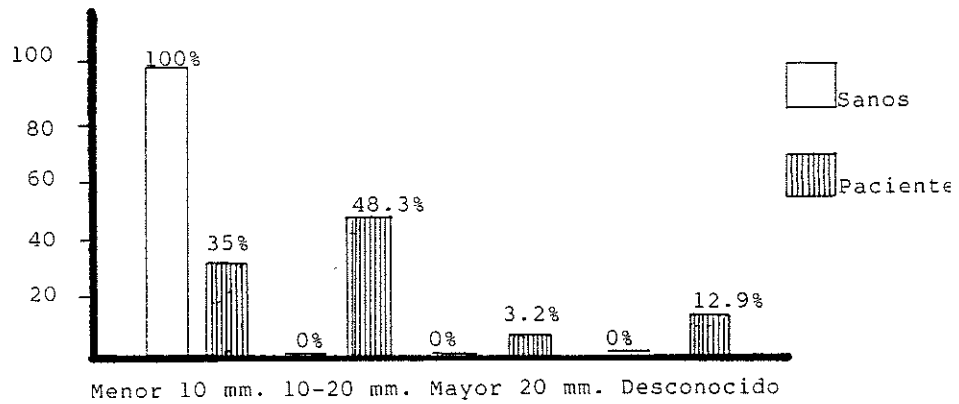
Porcentaje de distribución por sexo en pacientes y niños sanos.



Fuente: cuadro No. 1.

- GRAFICA No.2:

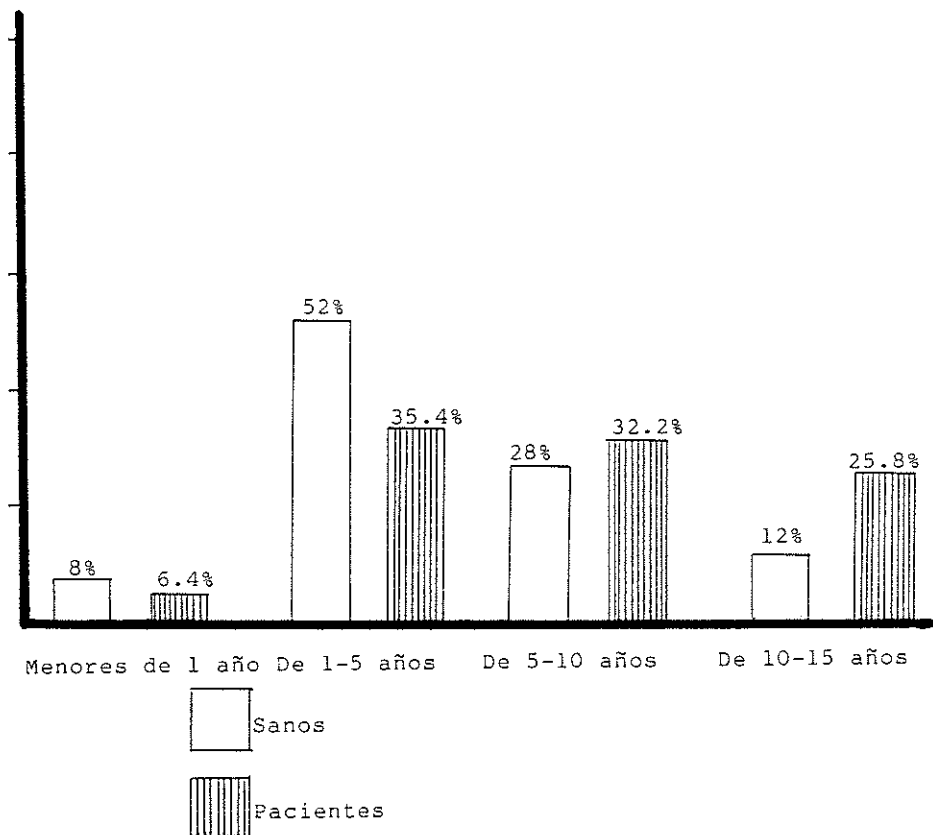
Prueba de Tuberculina, porcentaje en relación al grado de inducción de pacientes y niños sanos.



Fuente: cuadro No. 2.

GRAFICA No. 3:

Porcentaje según la distribución de edad de Poblaciones en estudio (pacientes y niños sanos)



ante: cuadro No. 3.

- TABLA No. 5:

Determinación de Antígeno de Mycobacterium Tuberculosis en orina por ELISA, según tipo de Tuberculosis, en 31 pacientes con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis, Guatemala, 1996.

| TIPO DE TUBERCULOSIS | | |
|---------------------------------------|----|---------|
| Pulmonar | 30 | (96.7%) |
| Extrapulmonar(ganglionar por biopsia) | 1 | (3.2%) |

Fuente: Boleta de recolección de datos y expedientes clínicos.

- TABLA No. 6:

Determinación de Antígeno de Mycobacterium Tuberculosis en orina por ELISA, según la duración del tratamiento antituberculoso a la toma de la muestra, en 31 pacientes con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis, atendidos en el HIIR, Guatemala, 1996.

| SEMANA DE TRATAMIENTO | NUMERO DE PACIENTES | PORCENTAJE |
|-----------------------|---------------------|------------|
| PRIMERA SEMANA | 25 | 80.4% |
| SEGUNDA SEMANA | 3 | 9.6% |
| TERCERA SEMANA | 2 | 6.4% |
| CUARTA SEMANA | 1 | 3.2% |
| TOTAL | 31 | 100.0% |

Fuente: Boleta de recolección de datos y expedientes clínicos.
Nota: HIIR (Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación).

Tabla No. 7:

Tabla tetracórica de Resultados de ELISA en sangre y en orina.

| | Positivos | Negativos | |
|-----------|-----------|-----------|----------------|
| SANGRE | A | B | |
| Positivos | 4 | 4 | A: 4 B: 4 |
| ORINA | 13 | 35 | C: 13 D: 35 |
| Negativos | C | D | |

Fuente: Boleta de Recolección de datos.

$$\text{SENSIBILIDAD: } \frac{A}{A + C} = \frac{4}{17} = 24\%$$

$$\text{ESPECIFICIDAD: } \frac{D}{B + D} = \frac{35}{39} = 90\%$$

$$\text{VALOR PREDICTIVO POSITIVO: } \frac{A}{A + B} = \frac{4}{8} = 50\%$$

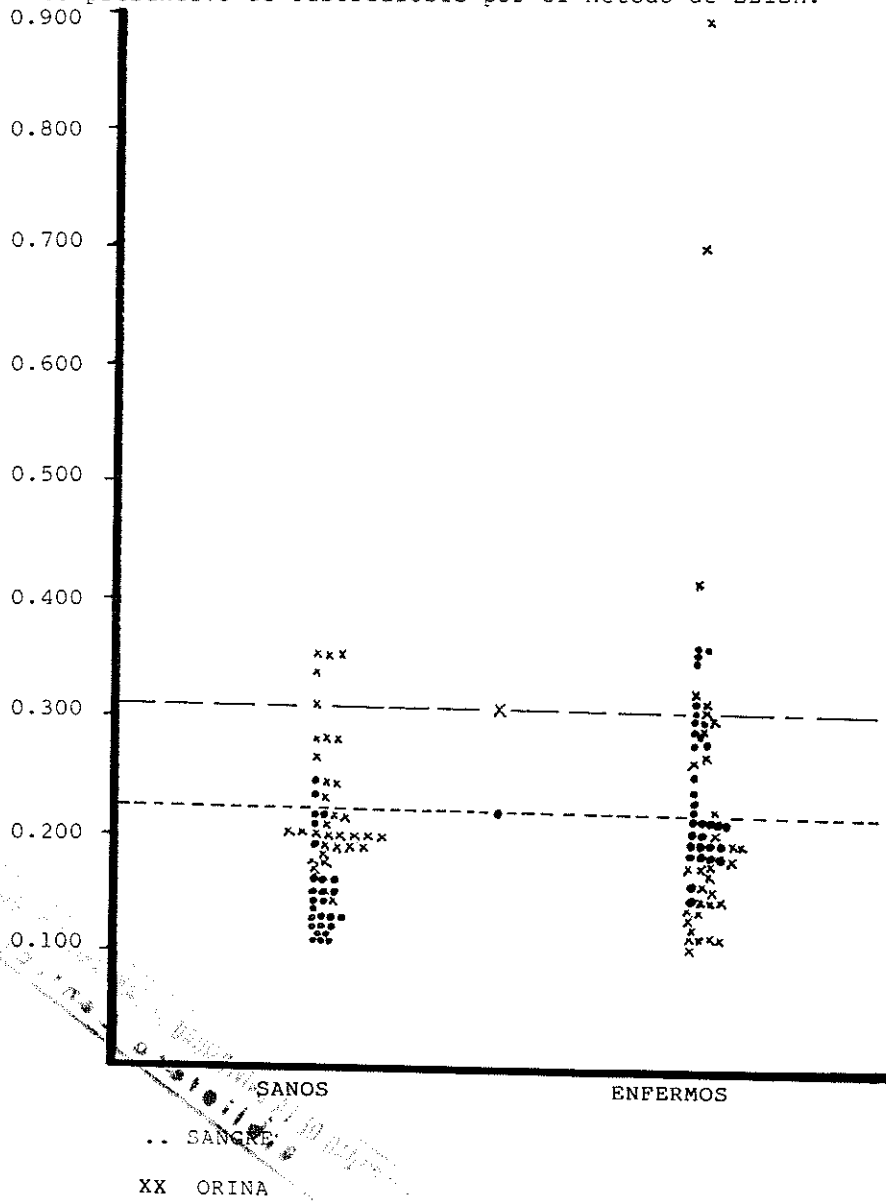
$$\text{VALOR PREDICTIVO NEGATIVO: } 70.9\%$$

27.-

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

- GRAFICA No. 4:

Comportamiento de Determinación de Antígeno de Mycobacterium tuberculosis en suero y orina de niños sanos y niños con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis por el Método de ELISA.



TURA DE ELISA:

| SUERO | | ORINA | |
|-------|----------|-------|----------|
| SANOS | ENFERMOS | SANOS | ENFERMOS |
| | 0.345 | | 0.311 |
| | 0.306 | | 0.191 |
| | 0.283 | | 0.429 |
| | 0.299 | | 0.163 |
| | 0.296 | | 0.192 |
| 0.161 | | 0.332 | |
| 0.159 | | 0.140 | |
| 0.147 | | 0.276 | |
| 0.119 | | 0.158 | |
| 0.127 | | 0.182 | |
| | 0.354 | | 0.267 |
| | 0.339 | | 0.131 |
| | 0.236 | | 0.159 |
| 0.237 | | 0.161 | |
| 0.219 | | 0.155 | |
| 0.241 | | 0.147 | |
| 0.104 | | 0.168 | |
| 0.148 | | 0.165 | |
| 0.198 | | 0.274 | |
| .209 | | 0.266 | |
| | 0.207 | | 0.172 |
| | 0.275 | | 0.158 |
| 0.128 | | 0.156 | |
| 0.150 | | 0.168 | |
| 0.141 | | 0.174 | |
| 0.163 | | 0.235 | |
| 0.147 | | 0.182 | |
| | 0.182 | | 0.699 |
| | 0.167 | | 0.303 |
| 0.133 | | 0.234 | |
| 0.119 | | 0.196 | |
| 0.133 | | 0.255 | |
| 0.134 | | 0.168 | |
| 0.150 | | 0.144 | |
| 0.168 | | 0.154 | |
| | 0.187 | | 0.870 |
| | 0.204 | | 0.189 |
| | 0.190 | | 0.157 |
| | 0.179 | | 0.154 |
| | 0.202 | | 0.167 |
| | 0.199 | | 0.142 |
| | 0.172 | | 0.201 |
| | 0.176 | | 0.156 |
| | 0.164 | | 0.145 |
| | 0.174 | | 0.139 |

| | | | |
|-------|-------|-------|-------|
| | 0.241 | | 0.132 |
| | 0.251 | | 0.121 |
| | 0.279 | | 0.159 |
| | 0.225 | | 0.320 |
| | 0.207 | | 0.271 |
| | 0.348 | | 0.341 |
| 0.155 | | 0.293 | |
| 0.110 | | 0.364 | |
| | 0.215 | | 0.241 |
| | 0.206 | | 0.149 |
| | 0.274 | | 0.112 |

SUERO:

CONTROLES: 25

| | |
|---------------------|---------|
| Media Aritmetica; | 0.15596 |
| Desviación Standard | 0.033 |
| Línea de Cohorte | 0.223 |

ORINA:

CONTROLES: 25

| | |
|---------------------|--------|
| Media Aritmetica; | 0.2058 |
| Desviación Standard | 0.05 |
| Línea de Cohorte | 0.305 |

30.-

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la presente investigación se estudió a un grupo de 31 pacientes con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis, los cuales se encuentran actualmente en tratamiento en el Hospital Infantil de Otolología y Rehabilitación.

La distribución por sexo de la población total (pacientes y niños sanos) estudiada es del 64% del sexo masculino (tabla No. 1). Respecto a la edad de los niños en estudio el 7% es menor de 1 año y el 42% es menor de 5 años (tabla No. 3), lo cual concuerda con la revisión bibliográfica acerca de colocar a este grupo como uno de los más vulnerables. (4,5,15)

La induración de la intradermoreacción de Mantoux, en el 100% de los niños sanos fue negativa, así como también en el 35% de los pacientes con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis, lo cual no concuerda con la literatura en estos pacientes que padezcan esta enfermedad, ya que factores diversos pueden disminuir la reactividad a la tuberculina, como pueden ser propiamente del huésped, los que produzcan inmunosupresión (por ejemplo: pacientes con SIDA); y según un artículo de los Anales de Pediatría de Octubre del 1993, un 10% de pacientes con cultivo positivo no reaccionaron a la prueba de Mantoux. (39)

El 100% de los controles (niños sanos) tenía inmunización previa con BCG, y de los pacientes con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis el 64% había sido vacunado (tabla No. 4). El efecto de la vacunación con BCG sobre la reacción de la prueba de Mantoux ó tuberculina ha sido ampliamente estudiado, y se ha demostrado que éste es variable, no hay todavía un método confiable que pueda diferenciar las reacciones en la prueba de la tuberculina producidas por la vacunación con BCG, ó producidas por el bacilo tuberculoso.

Según un estudio realizado en Canada en niños que fueron vacunados con BCG en la infancia, solo el 4.9% que fueron evaluados con prueba de Mantoux a los 11 años tuvieron una prueba positiva comparado con un 12% que fueron vacunados en la edad escolar con BCG, y se les realizó prueba de Mantoux también a los 11 años. (39) Con lo anteriormente mencionado podemos decir que a pesar que más del 50% de la población de pacientes con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis tenía BCG, no existe aún un estudio que asegure que la variación en el examen ó prueba de Mantoux se produce por ello unicamente, aunque si se ha visto que en un pequeño porcentaje podría modificar un poco la prueba, como se mencionó arriba.

La forma de presentación de la Tuberculosis fué en un 96.7% de origen pulmonar, diagnosticada en base a clínica y a los criterios modificados de la Organización Mexicana de Pediatría para diagnóstico de Tuberculosis, utilizados en el Hospital Infantil Infectología y Rehabilitación (ver criterios en anexos); y unicamente el 3.2% o sea un paciente tenía diagnóstico por biopsia ó Tuberculosis Ganglionar. Lo que concuerda con hallazgos en revisiones anteriores, pues como la infección se produce más comunmente por la inhalación de gotitas de flugge contaminadas con el bacilo tuberculoso, la infección predominante es la Pulmonar, tanto en niños como en adultos, mostrando que en niños solo el 25% de los casos es de origen extrapulmonar y que en adultos solo el 15% lo es. (40)

Debido a que se ha visto que la determinación de ELISA en suero disminuye con las semanas de tratamiento, pues baja la antigenicidad de las muestras, se incluyó entre los enfermos ó pacientes a un 80.4% de niños iniciando su tratamiento el día en que se tomaron las muestras de orina y de sangre (o sea vírgenes), el 96.8% de los pacientes se encontraba en la segunda semana de tratamiento, de tal forma que el 96.8% de pacientes se encontraban antes de su cuarta semana de tratamiento. (5,8)

El parámetro utilizado para la titulación del método de ELISA el índice de densidad óptica (IDO), observándose una amplitud 0.164 a 0.354 en la determinación de antígeno de Mycobacterium tuberculosis en suero sanguíneo y de 0.121 a 0.870 en la misma determinación en muestras de orina, ambas muestras obtenidas de pacientes con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis. Como grupo control se tomaron 25 niños considerados negativos en base a los criterios de exclusión, mostrando una amplitud de 0.104 a 0.251 en suero y 0.140 a 0.364 de IDO en muestras de orina.

Posteriormente a la lectura de los índices de densidad óptica en las muestras de control, se procedió a obtener la media aritmética, añadiéndole a esta previo calculo por formula descrita anteriormente dos desviaciones estándar; como es el caso del suero con media aritmética de 0.155 más dos desviaciones estándar(0.033) cuilínea de cohorte la ubicamos en 0.223. En las muestras de orina la media aritmética fué de 0.2058 más dos desviaciones estándar (0.05) dandonos una línea de cohorte de 0.305.

En base a estos resultados se tabuló en base a una tabla teórica, dandonos como resultado, 4 pacientes con ambas pruebas positivas, 4 pacientes con ELISA serico negativo y en orina positivo, 13 pacientes con ELISA serico positivo pero en orina negativo y 35 pacientes con ambas pruebas negativas.

En base a formulas ya descritas se obtuvo la sensibilidad, especificidad y valor predictivo de la prueba de ELISA en orina. La sensibilidad obtenida fué de 24%, con una especificidad de 90% un valor predictivo positivo de 50.3% y negativo de 70.9%; aunque como mencionaremos más adelante no se puede demostrar categóricamente con éste estudio la sensibilidad y especificidad de la prueba, pues solo el 50% de los pacientes con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis estudiados fueron positivos en sangre (prueba de oro), y aunque no era parte de este estudio se revisaron también los cultivos de esputo y/o aspirado gástrico, de los cuales solo el 32% habían sido reportados y estaban negativos; a pesar de que el estudio anteriormente realizado en adultos también sobre de

terminación de antígeno de Mycobacterium Tuberculosis en orina, el Hospital San Vicente mostró una sensibilidad de 47% y una especificidad de 100%. (20)

Es necesario aclarar que muchas veces se da tratamiento y se considera como tuberculoso a un niño, por la clínica, historia de la enfermedad y criterios antes mencionados (diagnóstico presuntivo). De todos los pacientes con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis el 92% obtuvo una radiografía anormal, el 52% PPD positivo y el 1 por ciento el PPD se desconocía; aunque como ya dijimos no era parte del estudio revisar los cultivos de esputo y/o aspirados gástricos, debido a los resultados obtenidos en ambos grupos estudiado y por la misma duda acerca del diagnóstico dado por clínica y criterios; encontramos que solo el 11% de los reportados el año pasado fueron positivos, lo cual para los doctores del Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación según su experiencia es un buen porcentaje, ya que en niños por no ser bacilíferos es mucho más difícil que estos sean positivos, por el comportamiento del bacilo, a menos que sea un cultivo mejorado (ej. BACTEC), con lo que se mejoraría su sensibilidad. De los pacientes estudiados solo el 32% de los cultivos había sido reportados como negativos, y el resto todavía está pendiente de lectura, aunque por un reporte verbal sabemos que hasta la fecha están negativos, apesar de llevar más de ocho semanas incubando.

Por lo anteriormente mencionado, no se puede obtener un patrón de certeza absoluta para determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba de ELISA en orina, ya que en base de criterios certeros de diagnóstico (cultivo en primer lugar y ELISA sérico) pues sabemos que no existe un estándar de oro en diagnóstico infantil, encontramos que dichos criterios no aparecieron positivos en el 100% de los pacientes, lo cual hace que no se pueda concluir de una forma válida la sensibilidad y especificidad de la prueba de

A en orina, y por lo tanto no sabemos si es válida para ser usada como coadyuvante en el diagnóstico de Tuberculosis Infan-

- 1.- El examen del sedimento y del sobrenadante urinario, para la determinación de antígeno de Mycobacterium Tuberculosis por Método de ELISA mostró una sensibilidad del 24%.
- 2.- El examen del sedimento y del sobrenadante urinario, para la determinación de antígeno de Mycobacterium Tuberculosis por Método de ELISA mostró una especificidad del 90%.
- 3.- No se puede demostrar categóricamente con este estudio la verdadera utilidad de la identificación del antígeno de Mycobacterium Tuberculosis en orina de pacientes pediátricos (prueba ELISA en orina), debido a que el diagnóstico realizado en estos pacientes es presuntivo, basado en clínica y en los criterios utilizados en el Hospital Infantil.
- 4.- Podemos también concluir, que es posible que las pocas cantidades de bacilos tuberculosos en el paciente pediátrico con ll ven a una baja antigenemia y sea más difícil su detección.
- 5.- Se puede concluir con este estudio que no es necesario que el paciente sufra de Tuberculosis Miliar ó Renal, para poder detectar la presencia de antígenos micobacterianos en la orina

RECOMENDACIONES

Continuar haciendo nuevas investigaciones que tengan como objetivo primordial el encontrar un método de diagnóstico nuevo y que sea efectivo y rápido, para el estudio de la Tuberculosis en niños, en quienes el diagnóstico es más difícil de realizar.

- . Profundizar más en nuevos estudios, sobre la determinación de antígeno Micobacteriano en sangre y orina, para ir mejorando su sensibilidad y especificidad.
- Continuar investigaciones que nos proporcionen nuevos datos respecto al comportamiento del antígeno del Mycobacterium Tuberculosis en pacientes con Tuberculosis Pulmonar ó Extrapulmonar.
- Insistir con la Dirección General de Servicios de Salud, para que las lecturas de los cultivos de esputo y/ó aspirados gástricos sean entregadas en 6 a 8 semanas, que es el tiempo necesario para su lectura; ó tratar de realizar los cultivos en el Hospital.
- Realizar en el futuro una investigación para estudiar retrospectivamente los criterios modificados de la Asociación Mexicana de Pediatría aquí en Guatemala; pues ya han sido ampliamente estudiados en México y en Estados Unidos.

"Determinación de antígeno de Mycobacterium Tuberculosis en orina por el Método de ELISA de niños con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis".

Estudio transversal realizado en niños menores de 12 años atendidos en el Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación durante los meses de Marzo a Abril de 1996.

Se estudiaron 31 niños con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis, según los criterios utilizados en el Hospital Infantil (ver criterios en anexos), con pacientes Hospitalizados o que visitará la consulta externa de dicho Centro Asistencial; además se tomaron como parámetros de inclusión: diagnóstico presuntivo de Tuberculosis, menor de 12 años, tratado en el Hospital Infantil, de ambos sexos, con menos de cuatro semanas de tratamiento, y que tanto el niño como sus padres deseen colaborar.

Se utilizaron además 25 niños sanos como controles, quienes debían reunir los siguientes requisitos: BCG previa, PPD menor de 12 mm, estar asintomáticos y no tener contactos tuberculosos.

Tanto a niños con diagnóstico presuntivo de Tuberculosis como a los niños sanos, se les realizó prueba de ELISA en sangre y orina; para tomar la prueba en sangre como el estándar de oro, y así ayudar a comprobar la sensibilidad y especificidad del Método de ELISA en orina. Los datos de las pruebas de orina y sangre se anotaron en una boleta de recolección de datos (ver anexos), junto con las variables estudiadas (edad, sexo, BCG previa, tipo de Tuberculosis y semanas de tratamiento) para luego tabular los datos y obtener la sensibilidad y la especificidad de la prueba.

La distribución por sexo de la población total (pacientes y r

sanos) estudiada es del 63% masculino. Respecto a la edad de niños estudiados, el 7% es menor de 1 año y el 35.4% es menor de 5 años. La induración de la intradermorreacción de Mantoux en el 100% de los niños sanos fué negativa, al igual que en el 35% de los enfermos, el 13% se desconocía, y a un 52% se le encontró una prueba de Mantoux positiva, el cual es un índice importante.

El 100% de los controles tenía inmunización previa con BCG y solamente el 64% de los enfermos habían sido vacunados, lo que podría modificar solo en un pequeño porcentaje la respuesta del PPD, que aún no existe un estudio en el que esto este completamente demostrado.

La forma de presentación de la Tuberculosis fué en un 96.7% origen pulmonar, diagnosticada a base de clínica y criterios modificados de la Organización Mexicana de Pediatría, utilizados en Hospital Infantil; y el solo el 3.2%, o sea un paciente tenía diagnóstico de Tuberculosis Ganglionar por biopsia. Y es la tuberculosis pulmonar en efecto la más frecuente, ya que debido a la forma de contagio (inhalación de gotitas de Flugge) es la que primero se produce, tanto en niños como en adultos.

Debido a que se ha observado en estudios anteriores que la prueba de ELISA en suero disminuye inversamente proporcional al tiempo de tratamiento, de los enfermos el 80.4% estaban iniciando tratamiento el día que se tomó la muestra, ya que se ha visto que la prueba empieza a disminuir a partir de la segunda semana de tratamiento.

La sensibilidad obtenida del Método de ELISA en orina fué de 80.3% y la especificidad de 90%, con un valor predictivo positivo de 80.3% y negativo de 70.9%.

Es necesario aclarar que no se puede obtener un patrón de certeza absoluta para determinar la sensibilidad y especificidad de

la prueba de ELISA en orina, pués en base a criterios certeros diagnóstico (cultivo y ELISA sérico), los cuales no fuerón positivos en el 100% de los pacientes, hace que no se pueda concluir trictamente de una forma válida la sensibilidad y especificidad del Método. Por lo que es importante realizar nuevos estudios bre la determinación de antígeno de Mycobacterium Tuberculosis niños. Y en un futuro realizar una investigación retrospectiva los criterios utilizados en el Hospital Infantil, pués ya han. . ampliamente estudiados en México y en Estados Unidos, pero no Guatemala.

ANEXOS

ANEXOS

PROGRAMA DE ACTIVIDADES:

| | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|--|--|
| | X | | | | | | | | | | | | | |
| | | X | | | | | | | | | | | | |
| | | | X | | | | | | | | | | | |
| | | | | X | | | | | | | | | | |
| | | | | | X | | | | | | | | | |
| | | | | | | X | | | | | | | | |
| | | | | | | | X | | | | | | | |
| | | | | | | | | X | | | | | | |
| | | | | | | | | | X | | | | | |
| | | | | | | | | | | X | | | | |
| | | | | | | | | | | | X | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | | |

- Selección del tema de Investigación
- Selección de asesor y revisor.
- Aceptación de asesor y revisor.
- Realización de marco teórico.
- Revisión por asesor y revisor.
- Presentación del trabajo al Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación.
- Presentación al CICS.
- Realización del trabajo de campo.
- Tabulación de resultados.
- Entrega de informe final.



MINISTERIO DE SALUD PUBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL
HOSPITAL INFANTIL DE INFECTOLOGIA Y REHABILITACION

9a. Avenida 7-01 Zona 11, Teléfonos: 723532 - 722270
Ciudad de Guatemala, C. A.

PARAMETROS DIAGNOSTICOS PARA TUBERCULOSIS

| <u>CRITERIO</u> | <u>PUNTAJE</u> |
|--------------------------------|----------------|
| AISLAMIENTO DE M. TUBERCULOSIS | 7 |
| BAAR EN ESPUTO O ASPIRADO G. | 4 |
| GRANULOMA ESPECIFICO | 4 |
| PPD MAYOR DE 5 mm SIN BCG | 3 |
| PPD MAYOR DE 15 mm CON BCG | 3 |
| RADIOGRAFIA SUGESTIVA | 2 |
| CUADRO CLINICO SUGESTIVO | 2 |
| CONTACTO CON BACILIFERO + | 2 |
| PPD DUDOSO | 2 |
| VIRAJE RECIENTE DEL PPD | 2 |
| CONTACTO INDIRECTO O CON BK - | 1 |
| RADIOGRAFIA ANL NO SUGESTIVA | 1 |
| GRANULOMA INESPECIFICO | 1 |
| EDAD MENOR A DOS AÑOS | 1 |

Of. _____
Ref. _____

INTERPRETACION:

- 1-2 : SE DESCARTA TUBERCULOSIS.
3-4: : TB FACTIBLE, INVESTIGAR MAS.
5-6 : TB PROBABLE, DAR PRUEBA TX.
7 O MAS: DIAGNOSTICO DE TB.

OTROS: PCR O BACTEC: 7 PUNTOS.

ELISA O ANTIGENOS: 2 PUNTOS.

PACHECO SOLIS, P.A. H.I.I.R. 1995.



BOLETA DE RECOLECCION DE DATOS

NOMBRE: _____

CLAVE: _____

CONTROL: _____ CASO: _____

SEXO: _____

EDAD: _____

PREVIA: _____

TIPO DE TUBERCULOSIS: (localización)

ESTADIO DEL TRATAMIENTO ANTITUBERCULOSO:

EM. _____ II SEM. _____ III SEM. _____ IV SEM. _____

ANÁLISIS SERICO:

DENSIDAD OPTICA: _____ DESVIACIÓN ESTANDAR: _____

LINEA DE COHORTE: _____

ELISA URINARIO:

DENSIDAD OPTICA: _____

DESVIACIÓN ESTANDAR: _____

LINEA DE COHORTE: _____

43. _

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

- 1.- Banica-D; algeorge-G; Moisoiu-A; Petre-A; Toanoa-M. The Possibilities for improving the serological diagnosis of active tuberculosis by using new mycobacterial antigens and immunoblot and ELISA technics. Pneumoftiziología. 1994 Jul-Dec; 43(3-4) 173-177.
- 2.- Banker-D; Daftary-Vg; Daftary-Gv; Pal-RB; Sandhya-J. Tuberculosis screening: usefulness of nex KREATECH IgA ELISA test. Indian Journal of Medicine Science. 1994 Aug; 48(8): 181-185
- 3.- Beyazova-U; Rota-S; Cevheroglu-C; Karsligil-T. Humoral inmune response in infants after BCG vaccination. Tuberculosis lung disease. 1995 Jun; 76(3): 248-253.
- 4.- Calvimontes Foianini, Shanti Gonsálo. Relación entre la prueba de Mantoux y la radiografía de tórax en pacientes pediátricos Tesis(Médico y Cirujano) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas. 1994 abril.
- 5.- Campos Diez, Zully D. Determinación sérica de antígenos de Mycobacterium Tuberculosis en pacientes con primoinfección. Tesis(Médico y Cirujano) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas. 1988 noviembre.
- 6.- Chest, Editorials. Childhood Tuberculosis a Diagnostic Dilema Vol. 104, No. 2. 1993 August. 329-398.
- 7.- Daniel, T.M. Et.al. The serodiagnosis of Tuberculosis and other Mycobacterial diseases by enzyme-linked immunosorbent assay. Ammer Rev. Respiratory disease. 1987 May; 135(5): 1137-1151.
- 8.- Galindo Sánchez, Rudy. Determinación seriada de antígeno de Mycobacterium Tuberculosis en saliva y sangre de pacientes con tratamiento antituberculoso. Tesis(Médico y Cirujano) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas

3 Julio.

- Guerrero, Rodrigo. Epidemiología. 8a. ed. Addison Wesley Iberoamericana. Colombia, 1986. 22-23, 174-183.
- Isselbacher. Principios de Medicina Interna de Harrison. 11 edición. Interamericana. México, 1989.
- Jawetz, Ernest. Manual de Microbiología Médica. 8a. Ed. México. El Manual Moderno. S.A. 1982, septiembre.
- Jerónimo Sis, Herlinda. Tuberculosis y Serodiagnóstico. Tesis(médico y cirujano) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas. 1988 septiembre.
- Levinson Samuel. Clinical Laboratory Diagnosis. 7a. Ed. Lea y Febifer. E.U.A. 1969.
- Mc Sherry, George. Current of Epidemiology of tuberculosis. American Journal of Public Health. October, 1993. Vol. 105.
- Meneghello, Julio. Pediatría de Meneghello. 4a. Ed. Mediterraneo. Chile, 1991, 673-393.
- Mariney Grieco. Inmunodiagnosis for clinicians. year medical publishers, INC. London. 1983.
- Meylan-M; Nicolet-J; Oppliger-A; Burnes-A; Martig-J. Evaluation of two ELISA TECHNIQUES FOR THE DIAGNOSIS OF BOVINE PARATUBERCULOSIS. Schweiz-Arch-Tierheilkd. 1994; 136(11-12): 377-381.
- Mundra-AV; Vasista-SG; Daftary-VG; Daftary-GV; Banker-DP. Evaluation of ELISA test serological diagnosis of tuberculosis. Journal Association Physicians India. 1994 Jan; 42(1): 20-21.
- Monzón Gomes, Sonia. Sensibilidad y Especificidad de ELISA para la detección de antígenos de Mycobacterium Tuberculosis en saliva y esputo. Tesis(médico y cirujano) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas. 1989 Noviembre.

- 20.- Montenegro; Solares; Aquino; Guzmán. Determinación de la sensibilidad y especificidad del método de ELISA para antígeno de Mycobacterium tuberculosis en orina de pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar. 1995 Junio-Julio.
- 21.- Ralph Michael Aloisí. Principles of Immunodiagnosics. T C.V. Mosby Company. London. 1979.
- 22.- Reichman. The Tuberculosis Epidemy and Public Health. Am can Journal of public health. May 1993.
- 23.- Ríos Alvaro Saúl. Afección del tracto urinario por mycobacterium tuberculosis en pacientes hospitalizados por tuberculosis pulmonar. Tesis(médico y cirujano) Universidad de San Carlos Facultad de Ciencias Médicas. 1989 marzo.
- 24.- Robbins, Cotran. Patología Estructural y Funcional. 4a. Mc Graw Hill. México. 1994, 394-401.
- 25.- Song-LB; Han-MH. Detection and clinical significance of Ig antibody in cerebrospinal fluid by ABC ELISA method. Chung-Hua-Chieh-HO-HO-HU-Hsi-Tsa-Chih. 1994 april; 17(2): y 83, 125-126.
- 26.- Vaughan, V.C. Tratado de Pediatría de Nelson. 13a. Ed. Interamericana. México, 1990. 925-978.
- 27.- Vetilemaj. Use of BCG vaccine in shelters for the homeless chest. Vol. 105, april, 1993.
- 28.- Wolinsky, E. Tuberculosis. Tratado de Medicina Interna de cil. 17a. ed. Interamericana. México, 1987. 1809-1813.
- 29.- Zou-YL; Zhang-JD; Chen-MH; Shi-GQ; Prignot-J; Cocito-C. Identification and verification of the anabolic steroid bolden in equine blood and urine by HPLC/ELISA. Biomed-Chromatog 1994 Mar-Apr; 8(2): 63-68.
- 30.- Hagedorn-HW; Shulz-R; Jaeschke-G. Serological analysis of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis with enzyme-linked immunosorbent assays for anti-A60 immunoglobulins. Clinic Infect. disease. 1994 Dec; 19(6): 1084-1091.

- Byrne-DE; Mac-Phee-M; Mulholland; Mccue-P; Callahan-HJ; Mulholland-SG. Urinary tract glycoprotein: distribution and antigenic specificity. World-Urol. 1994 12 (1); 21-26
- Aldras-AM; Orestein-JM; Koltler -DP; Shaddock-JA; Didier-ES. Detection of Microsporidia by indirect immunofluorescence antibody test using polyclonal and monoclonal antibodies. J-Clinical Microbiology, 1994 Mar; 32 (3); 608-612.
- Jensen-JS; Feldt-Rasmussen-B; Borch-Jonsen-K; Jensesn-G. Urinary albumin excretion in a population based sample of 1011 middle aged non-diabetic subjects, The Copenjagen City Heart study group. Scand-Journal clinical of laboratory inves-tigation. 1993, Dic, 53 (8) 867:72
- .- Constantine-N; Zhang-X; Li-L; Bansal-J; Hyams-KC; Smialek-JE. Aplication of a rapid assay for detection of antibodies to human immunodeficiency virus in urine. Am-Journal-Clical pathology. 1994 Feb, 101 (2) ; 157-61.
- .- Balbay-D; Ozen-H; Ozkardes-H; Barut-A. Detection of urinary interleukin-2, interleukin-2 receptor, and factor levels of tumor necrosis in patients with superficial bladder tumors after intravesical BCG immunotherapy. Urology, 1994, Feb 43 (2) : 187-90
- 1.- Menary-MJ; Lehmann-D; Michael-A; Coakley-K. Antigenuria in healthy Papua New Guinean children with nasal Haemophilus Influenzae type B carriage. Ann-Trop-Peditric. 1993; 13 (4): 385-9.
- 7.- Nagao-AT; Pilagallo-ML; Pereira-AB. Quantation of salivary urinary and faecal IgA in children living in different condi-tions of antigenic exposure. Journal-Trop-Pediatric. 1993, Oct, 39 (5) : 278-83
- 8.- Koopmasn=m; Sanchez-Martinez-D; Patton-J. Evaluation of an-tigen and antibody detection in urine specimens from children with congenital human cytomegalovirus infection. 1995, Ago; 46 (4) : 321-8. Journal of Medicine Virology.

- 39.- Starke Jeffrey r. The tuberculin skin test. Pediatric Annals
oct/10; 1993.
- 40.- Wagner David c. The clinical presentation of tuberculous disease in children. Pediatric Annals. Oct/10; 1993.