



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS EN
PACIENTE PEDIÁTRICO INFECTADO CON EL
VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA.
REVISIÓN DE LA LITERATURA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN:
INFECTOLOGIA PEDIATRICA**

**P R E S E N T A :
ELHAM MANDEGARI FERDOVSIAN**

TUTORES:

DR. LUIS XOCHIHUA DIAZ

DR. IGNACIO MORA MAGAÑA

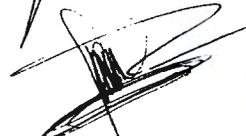


DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS EN PACIENTE PEDIATRICO
INFECTADO CON EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

REVISION DE LA LITERATURA



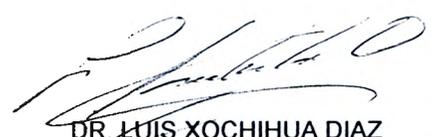
DR. JOSE N. REYNES MANZUR
DIRECTOR DE ENSEÑANZA



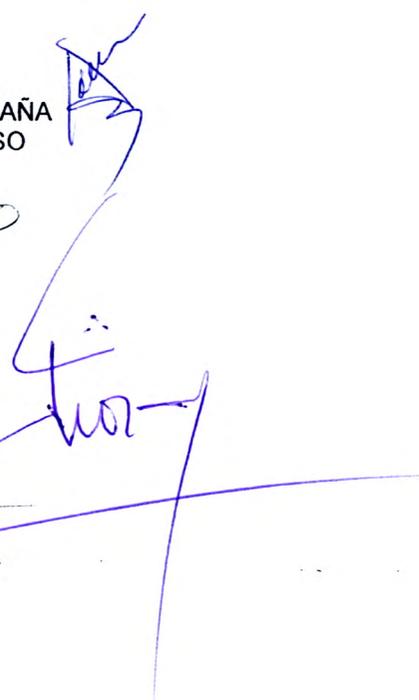
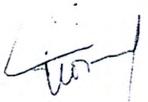
DRA. MIRELLA VAZQUEZ RIVERA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO



DR. NAPOLEON GONZALEZ SALDAÑA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO



DR. LUIS XOCHIHUA DIAZ
TUTOR



DR. IGNACIO MORA MAGAÑA
TUTOR

DEDICATORIA

Este trabajo esta dedicado al Divino Creador del Universo por su asistencia divina en el logro de mis éxitos.

A mis queridos padres, tía, hermano, cuñada, sobrinas y primos por su amor y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

A mis queridos compañeros de infectología: Lilia, Israel, Joselito, y Azarel,
por su inestimable apoyo, a mis
maestros, y tutor, dr. Ignacio Mora por su invaluable contribución
para mi formación.

INDICE

RESUMEN.....	5
ANTECEDENTES.....	7
JUSTIFICACION.....	37
PREGUNTA DE INVESTIGACION.....	38
OBJETIVO.....	38
MATERIAL Y METODOS.....	39
RESULTADOS.....	43
DISCUSION.....	46
CONCLUSIONES.....	51
BIBLIOGRAFIA.....	52
ANEXOS.....	62

DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS EN PACIENTE PEDIATRICO INFECTADO CON EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA

Dra. Elham Mandegari Ferdovsian*, Dr. Luis Xochihua Díaz**, Dr. Ignacio Mora
Magaña***

*Medico residente de Infectología; **Medico adscrito departamento de infectología;

***Departamento de investigación

Resumen

Objetivo. Determinar cuales son los métodos diagnósticos de mayor utilidad para la detección de tuberculosis (TB) en el paciente pediátrico infectado por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) reportado en la literatura.

Diseño. Revisión cualitativa de la literatura

Material y Método. Se procedió a recabar la información en los centros de documentación e información electrónica utilizando las bases de datos de Internet de: Cochrane, Pubmed, Scielo, Artemisa, Ovid, Lilacs, EMBASE y referencias cruzadas de revisiones anteriores, con las palabras de búsqueda: AIDS, HIV, tuberculosis, HIV and tuberculosis, diagnosis of tuberculosis in children with AIDS. En pubmed en la sección de preguntas clínicas (clinical queries) se limito a artículos de diagnóstico con las palabras HIV and tuberculosis, HIV, Tuberculosis.

Resultados. Se incluyeron 6 estudios de 1999 al 2006, incluyendo 913 pacientes de los cuales 327 fueron VIH positivos (+) y 586 fueron VIH negativos (-).

Conclusiones. El número de estudios y las diferencias en procedimientos y metodología no permiten documentar cuál es el método diagnóstico de mayor utilidad para el diagnóstico de TB en pacientes pediátricos con VIH. Se requieren de estudios multicéntricos conducidos para asesorar la validez de los nuevos métodos diagnósticos en contextos donde existen cargas variables de enfermedad por TB y VIH.

ANTECEDENTES

TUBERCULOSIS

La TB continúa siendo una importante causa de morbi-mortalidad en todo el mundo a pesar de los grandes avances en técnicas de diagnóstico y tratamiento. ¹

La epidemia de VIH/SIDA ha influido de manera muy importante sobre la reemergencia de la TB como problema de salud pública. La inmunosupresión secundaria al VIH ha incrementado los casos de TB tanto en países desarrollados como subdesarrollados. Así mismo, la infección por VIH ha modificado las manifestaciones clínicas de esta enfermedad haciendo más difícil su diagnóstico y tratamiento. ²

De un 15-20% de los casos de tuberculosis en los países en desarrollo corresponden a la población pediátrica, comparado con los países desarrollados donde la proporción es significativamente menor (3-6%). ³

IMPACTO DE VIH EN TB PEDIATRICA

En niños la asociación entre infección por VIH y TB no ha sido caracterizado tan adecuadamente como en adultos.

Recientemente estudios clínicos y de autopsia realizados en Zambia, Etiopía y Sudáfrica, que incluyeron un gran número de niños con TB confirmada, demostraron altos índices de morbi-mortalidad entre los niños infectados con VIH, comparados con aquellos VIH negativos, con una incidencia de TB 20 veces mayor. ^{4, 5, 6}

En un estudio prospectivo recientemente llevado a cabo en Western Cape, un total de 23.4 casos de TB activa fueron diagnosticados por cada 100 casos de niños infectados por VIH por año.⁷

Estudios en poblaciones pediátricas del África subsahariana han demostrado una tasa de coinfección de VIH/TB del 11-64%.⁸

En Zambia se encontró que la presencia de múltiples patógenos en un solo paciente es común y que los cuatro hallazgos más comunes fueron: Neumonía aguda piogénica (39.1%), neumonía por *Pneumocystis jiroveci* (PCP) 27.5%, por TB (18.8%), y citomegalovirus (20.2%).⁹

El impacto de la epidemia de VIH en tuberculosis pediátrica ha sido reportado en varios estudios. Un estudio prospectivo de cohorte de niños, en Addis Ababa con TB diagnosticados de diciembre 1995 a enero 1997 en la cual se compararon niños VIH positivos y VIH negativos, reporto que los pacientes VIH positivos eran de menor edad y con más bajo peso y tenían una mortalidad 6 veces mayor.¹⁰

La adherencia al tratamiento antifímico fue elevada (96%) y la tasa de curación de TB fue del 58% en los pacientes VIH positivos en comparación con 89% para los pacientes pediátricos VIH negativos. El estudio concluyo que los pacientes pediátricos VIH positivos tienen mayor riesgo de error diagnostico al igual que diagnostico mas tardío. Las manifestaciones clínicas fueron más severas y la progresión a la muerte fue más rápida en pacientes VIH positivos.¹¹

La coinfección de VIH y TB en niños de varios estudios realizados en la India fue de 16-68%.^{12, 13}

Un estudio reciente en Etiopia también encontró que la mortalidad era 6 veces más alta en niños infectados por VIH y TB. Sin embargo otros estudios a nivel mundial han fracasado en demostrar un incremento en el índice de TB en niños expuestos o infectados por VIH.¹⁴

Un estudio multicéntrico en Estados Unidos de América encontró un alto índice de casos de TB anual (51-478/100000) entre niños expuestos e infectados por VIH, menores de 5 años de edad, comparados con el total de índice de casos en 1992 de 5.5/100,000 en niños de la misma edad.¹⁵

También hay evidencia de que la TB congénita, una entidad extremadamente rara, se ha incrementado en la era de VIH/TB.¹⁶

Los niños con VIH y coinfección con TB tienen respuesta terapéutica menos adecuada y mayores índices de recaídas según varios estudios.¹⁷⁻
¹⁹ VIH es el factor de riesgo mas importante hasta ahora identificado para acelerar la progresión de infección latente de TB a enfermedad.²⁰

Una diferencia clave entre niños y adultos es el tiempo de adquirir la TB. En adultos, la TB latente se presenta predominantemente antes de la infección por VIH y antes de que comience a declinar el sistema inmunológico. La enfermedad por TB en adultos se da por lo general en el contexto de una reactivación del *Mycobacterium tuberculosis*. Por el contrario, la mayoría de los pacientes pediátricos infectados perinatalmente por VIH son expuestos e infectados por *M. tuberculosis* más tardíamente. Muchos estudios sugieren que la TB en niños infectados con VIH ocurre en edades mayores.²¹

ENFERMEDAD POR TB

Aunque los pacientes infectados con VIH están más propensos a desarrollar TB diseminada y otras formas extrapulmonares de TB, fenómeno que refleja un pobre control de la infección micobacteriana, la presentación clínica es usualmente similar que la vista en pacientes VIH negativos, sin embargo es más difícil diferenciar síntomas relacionados a TB que aquellos causados por otras condiciones asociadas a VIH.²²⁻²³

Los signos radiológicos y clínicos pueden ser de utilidad para diferenciar TB de patologías pulmonares relacionadas a VIH, como ser la neumonitis intersticial linfocítica, bronquiectasias o sarcoma de Kaposi pulmonar, sin embargo hay un traslape de características clínicas y las co-morbididades en pacientes infectados con HIV son comunes.²⁴

El factor de riesgo determinante más importante para desarrollar TB después de una infección primaria es la edad, con el mayor riesgo en niños con un sistema inmune inmaduro (menores de 3 años) o con patologías inmunosupresoras.²⁵

En un estudio prospectivo el riesgo de TB fue 4 veces mayor en niños con recuento de CD4 menor de 15% que en niños con CD4 mayor o igual de 15% y fue 3 veces mayor cuando la carga viral de VIH era mayor de 5×10^4 copias/ml.²⁶

La alta incidencia de TB en niños infectados por VIH puede ser explicado por:

1. El riesgo incrementado de exposición a TB y/o
2. Un riesgo incrementado de progresión a enfermedad activa después de la infección.²⁷

DIAGNOSTICO

El diagnostico de TB infantil representa un verdadero desafío porque la confirmación bacteriológica por cultivo de *M. tuberculosis*, considerado el estándar de oro para el diagnostico de TB, rara vez excede 30-40%.²⁸

El frotis de esputo con tinción para bacilos alcohol ácido resistentes (BAAR) en muchos lugares es el único método diagnostico disponible pero los hallazgos positivos se presentan en menos de 10-15% de los niños con probable TB.²⁹⁻³¹

El cultivo de 2-3 aspirados gástricos obtenidos en ayuno permite la detección del 30 a 40% de los casos de TB, aunque mayores aislamientos se han reportado en cultivos realizados en niños con enfermedad tuberculosa avanzada.³²⁻³³

Otros métodos alternativos de recolección de especimenes incluyen la aspiración nasofaringea que provee un rendimiento diagnostico (30% vrs 38% del aspirado gástrico), y esputo inducido con solución salina.³⁴

Un estudio reciente en Perú demostró que el *string test* es bien tolerado en niños incluso en menores de 4 años, sin embargo se necesitan estudios adicionales para establecer la factibilidad y el valor diagnostico de los diferentes métodos de muestreo.³⁵

Ante la ausencia de una confirmación bacteriológica, el diagnostico de TB en niños se basa usualmente en la triada de:

- Contacto con un caso infeccioso
- Una prueba positiva PPD (derivado proteico purificado)
- Signos sugestivos de TB en radiografía de tórax o datos clínicos

Esta triada es de menos utilidad en áreas endémicas de TB, donde la prueba de PPD es positiva frecuentemente y donde la exposición a *M. tuberculosis* por lo general no se documenta. El diagnóstico de TB en pacientes pediátricos en dichas áreas, depende principalmente de las características clínicas y de la interpretación subjetiva de la radiografía de tórax.³⁶⁻³⁷

Sin embargo la radiografía también tiene limitaciones sobre todo en la valoración del paciente infectado por VIH. Las radiografías del tórax pueden producir resultados equívocos o confusos, debido a que dichas radiografías pueden parecer inusuales a causa del VIH o de otras complicaciones relacionadas con esta infección, haciendo que la TB sea más difícil de diagnosticar en las personas con VIH.

El diagnóstico y manejo TB en el paciente pediátrico constituye aun un reto mayor en la era de la epidemia VIH, por la dificultad en diferenciar síntomas relacionados a TB de los causados por otras condiciones asociadas a VIH. Es de suma importancia diagnosticar oportunamente la coinfección de TB en pacientes con VIH ya que su manejo mejora significativamente su condición clínica y a diferencia de otras infecciones oportunistas presentes en paciente con VIH, la TB en estos casos responde de forma adecuada al tratamiento. Por otro lado las dificultades en el diagnóstico de TB en pacientes con VIH también hace que este sea sobre-diagnosticado en algunos contextos clínicos.³⁸

Los factores que contribuyen a las dificultades adicionales de diagnóstico son las siguientes:

1. Los niños infectados con VIH, quienes viven con adultos con VIH tienen más probabilidad de estar expuestos a un caso índice de TB en casa. Sin embargo los adultos infectados con VIH frecuentemente tienen baciloscopias

negativas y por lo tanto el riesgo de infección por esta exposición no es apreciado.

2. El PPD es menos sensible en niños con VIH que en los VIH negativos.

3. Síntomas pulmonares crónicos pueden relacionarse a otras condiciones relacionadas con VIH, como bronquiectasias, reduciendo la especificidad del abordaje diagnóstico basado en síntomas.

4. Pérdida de peso o falla de medro son características típicas de TB e infección por VIH.

5. La progresión rápida es más probable que ocurra en niños infectados por VIH, reduciendo la sensibilidad de abordajes diagnósticos que se enfocan en síntomas persistentes.

6. La interpretación de las radiografías se complica por la presencia de co-morbilidades relacionadas con VIH como de neumonías bacterianas, neumonitis intersticial linfocítica, bronquiectasias, sarcoma de Kaposi pulmonar, y presentación atípica de TB en pacientes inmunocomprometidos.³⁹

Ensayos nuevos basados en células T, que utilizan antígenos específicos de *M. tuberculosis* (antígeno blanco secretado tempranamente) [ESAT]-6 y cultivos filtrados [CFP-10]), parecen ofrecer una especificidad y sensibilidad más elevada.⁴⁰

El ensayo ELISPOT (T-SPOT.TB; Oxford Immunotec) ha demostrado una mayor correlación con el grado de exposición a TB; así mismo, ha tenido una sensibilidad mejorada en niños con VIH tratados como probable TB, en comparación con PPD; situación que no es afectada por el conteo de CD4 en adultos con VIH. Por otro lado, en cuanto a PPD, los ensayos

novel basados en células T no pueden diferenciar infección por *M. tuberculosis* de enfermedad activa.⁴¹⁻⁴²

El identificar la aplicación correcta de estos ensayos basadas en células T novel en áreas de endemidad y no endemidad es de prioridad para investigaciones futuras.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una herramienta diagnóstica emergente para el diagnóstico de TB pediátrica. Sin embargo su rol en la práctica clínica diaria necesita ser definida. Un PCR negativo no descarta la posibilidad de TB y un resultado positivo no siempre es confirmatorio. La PCR podría ser de utilidad en la valoración de niños VIH positivos y negativos con enfermedad pulmonar significativa, cuando el diagnóstico no se puede establecer tan fácilmente.

Ante la ausencia de métodos diagnósticos adecuados para TB, mucho interés se ha generado en el método de serodiagnóstico. Se ha utilizado ELISA para la detección de anticuerpos para varios antígenos purificados o del complejo *M. tuberculosis* en niños. A pesar de un gran número de publicaciones en los últimos años, los estudios serológicos ha demostrado ser de escasa utilidad en el diagnóstico de rutina de TB en niños a pesar de ser una técnica rápida y de no requerir otro tipo de especímenes. Los resultados de dichos estudios pueden estar influenciados por factores tales como ser edad, vacunación por BCG y exposición a micobacterias ambientales. Los estudios serológicos teóricamente no pueden diferenciar entre infección o enfermedad por *M. tuberculosis*. Actualmente el serodiagnóstico no parece tener utilidad para el diagnóstico de TB pulmonar pediátrica.⁴³

MÉTODOS DE DIAGNOSTICO PARA TB ESTABLECIDOS

PRUEBA DE TUBERCULINA

La prueba de Mantoux, el PPD, se basa en la detección de respuesta de hipersensibilidad cutánea tardía frente a las proteínas del bacilo tuberculoso, reacción que se produce, la mayoría de las veces, después de una infección producida por *M. tuberculosis*, aunque también puede ser ocasionado por vacunación por BCG o por micobacterias ambientales. En esta prueba se utilizan 5 unidades de derivado proteínico purificado arriba descrito y la reacción se mide en milímetros de induración, después de 48-72 hrs de la aplicación.

Se le ha dado mucho énfasis para el diagnóstico de infección por *M. tuberculosis* en pacientes pediátricos, sin embargo su valor en pacientes con infección por VIH es controversial. El PPD tiene baja sensibilidad en niños con VIH, resulta positivo en una minoría de los niños con VIH con confirmación bacteriológica de TB, a pesar de tomar como positivo un corte mayor o igual de 5mm. ⁴⁴

La PPD tiene importantes limitaciones a mencionar:

1. La conversión puede demorar hasta 3 meses después de la infección
2. Existe dificultad para indicar cuando ocurrió la infección primaria o de registrar una reinfección. ⁴⁵
3. El PPD el cual es un marcador estándar de infección por *Mycobacterium tuberculosis* en pacientes inmunocompetentes, tiene una sensibilidad baja en pacientes con VIH, dado que la capacidad de responder al PPD depende de la inmunidad mediada por células, y la anérgia es cada vez mas común conforme avanza la enfermedad por VIH. Sin embargo se debe realizar con fines de tamizaje y cuando haya sospecha de TB en todo paciente infectado con VIH.
4. La exposición a micobacterias ambientales, y la vacunación previa con BCG pueden explicar una falsa reactividad al PPD, reduciendo significativamente su sensibilidad diagnóstica. ⁴⁶

Hay estudios que reportan que el PPD tiene una sensibilidad de 58% en pacientes pediátricos sin infección por VIH y únicamente 26% en niños infectados con VIH⁴⁷

La habilidad de los niños con TB de desarrollar reacciones a la tuberculina depende de un sistema inmune celular intacto. La reacción de hipersensibilidad tardía representa una medida *in vivo* de la inmunidad celular (IC). Los elementos celulares involucrados en la IC incluye linfocitos CD4+, CD8+, neutrófilos y macrófagos. ⁴⁸

La interpretación del PPD varía de acuerdo con los criterios establecidos por la British Thoracic Society (BTS), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la *American Academy of Paediatrics* (AAP). Según la OMS se considera positiva una reacción de induración al PPD > 10 mm en niños sin BCG y > 15 mm en los vacunados, mientras que para la BTS, 5 a 14 mm en no vacunados y > 15 mm en vacunados. Las guías de la AAP excluyen los efectos de la BCG y la interpretación se basa en el riesgo de diferentes poblaciones. En el caso de los pacientes con HIV se considera positiva una PT > 5 mm. ⁴⁹

Por primera vez ha surgido una alternativa a PPD en la forma de un nuevo tipo de ensayo *in vitro* de interferón gama basados en células T. El ensayo de liberación de interferón gama (TIGRA) es una prueba *in vitro* indirecta para demostrar infección por *M tuberculosis*, a través de medir interferón-gama (IFN-gama) secretado por células T previamente expuestas a *M. tuberculosis* y evaluar el estado de infección o no. Un elevado nivel de producción de interferón por la tanto se presume que sea indicativo de infección por TB. ⁵⁰

Se utiliza una mezcla de péptidos estimulantes, que son las proteínas ESAT-6 y CFP-10 para estimular células T en sangre entera heparinizada, previamente extraída del paciente a evaluar y demostrar interferón gama.

La detección de interferón-gama por ELISA o ELISPOT, es utilizada para identificar *in vitro* respuestas a ESAT-6 y CFP-10, que son asociados a la exposición a *Mycobacterium tuberculosis*.⁵¹

En este momento existen dos pruebas en el comercio: El ensayo de sangre entera para demostrar incremento de IFN gama (QUANTIFERON-TB Gold, Cellestis Ltd, Victoria, Australia), por medio de una prueba de ELISA, aprobado por la FDA en Dic del 2004 y un ensayo de inmunospot ligado a enzimas (T SPOT-TB, Oxford Immunotec, Oxford, England), el cual es aprobado para uso en Europa.

Estas pruebas tienen la ventaja de no resultar positivas en el caso de haber recibido BCG previamente ni tampoco tienen reacción cruzada con la mayoría de las micobacterias ambientales.

Un estudio pequeño realizado en Sudáfrica utilizando un formato diferente de Lalvani ELISPOT (i.e. antígenos recombinantes en vez de péptidos) reportaron respuesta positiva a ELISPOT a ESAT-6 o CFP-10 en 10 (83%) de 12 niños con TB confirmada por cultivo. La alta especificidad de TIGRAs ha sido ampliamente demostrada en adultos y confirmada en niños.⁵²⁻⁵³

Para infección latente por TB, el ELISPOT, ELISA y ensayos *ELISA in-tube* tienen especificidad más alta que PPD ya que no es afectado por vacunación por BCG. La especificidad más alta reducirá o eliminara los falsos positivos que resultan por vacunación por BCG y exposición a micobacterias ambientales, reduciendo la quimioprofilaxis innecesaria y su toxicidad asociadas, sin embargo se necesitan estudios de cohorte longitudinal para confirmar la verdadera sensibilidad de TIGRAs.

Las guías del Centro para Control de Enfermedades (CDC) recomienda el uso de TIGRAs en vez de PPD para diagnostico de infección latente por TB en personas con riesgo de presentar un PPD falso negativo, que incluye niños menores y personas con inmunidad celular suprimida por infección por VIH.⁵⁴

SISTEMA DE PUNTUACION DIAGNOSTICA DE TB INFANTIL

Existen una variedad de algoritmos con criterios para diagnosticar TB en el paciente pediátrico, sin embargo estos carecen de una definición estándar de los síntomas, como los mayor de 13 semanas de duración el cual es muy inespecífico para TB, pero el uso de síntomas bien definidos pueden mejorar la certeza diagnóstica .⁵⁵

El sistema de puntuación diagnóstica de TB infantil fue desarrollada para proveer un método simple para el diagnóstico de TB en países en vías de desarrollo, por las limitaciones de realizar estudios radiológicos, cultivos y otros métodos para diagnóstico de TB. Por dichas circunstancias la escala de puntaje para diagnóstico de TB fue desarrollada en Papúa-Nueva Guinea por Edwards, en 1987. Su utilidad fue comprobada en dicho país por Van Beekhuizen en 1998 donde la prevalencia de VIH es aun baja.⁵⁶

RADIOGRAFIA DE TÓRAX

La TB tanto pulmonar como la extrapulmonar, no presenta ningún signo radiológico patognomónico.

En general, las anomalías radiográficas de la TB pulmonar pediátrica son el resultado de la combinación de infiltrados parenquimatosos y cambios mecánicos (especialmente hiperinsuflación y/o atelectasias) inducidos por la obstrucción de la vía aérea, parcial o total, por el agrandamiento de ganglios linfáticos intratorácicos. Estas anomalías pueden acontecer en cualquier lóbulo pulmonar (a diferencia de la población adulta, los pacientes pediátricos presentan igual riesgo para los diferentes lóbulos pulmonares) y en el 25% de los casos, están presentes en múltiples lóbulos.

Los hallazgos más frecuentes son las adenopatías mediastinales o parahiliares, las atelectasias o la hiperinsuflación segmentaria, la consolidación alveolar, las densidades intersticiales, el derrame pleural y la cavitación (rara antes de la adolescencia). Las adenopatías parahiliares

y/o paratraqueales con o sin infiltrados pulmonares son los típicos hallazgos radiológicos de la TB primaria de la infancia (92%). La TB miliar se manifiesta con un patrón micronodular difuso, típicamente de 1 a 2 mm de diámetro.

En la evaluación del niño asintomático con sospecha de TB, y con una radiografía de tórax normal, no existe lugar para la tomografía computarizada (TAC) torácica. Por el contrario un estudio tomográfico puede ser útil para demostrar enfermedad endobronquial, invasión pericárdica, cavitación precoz, bronquiectasias, adenopatías, lesiones parenquimatosas silentes, o pequeños nódulos miliares para aquellos pacientes que presentan hallazgos mas sutiles en la radiografía de tórax, radiografía de tórax anormal o síntomas sugestivos de enfermedad pulmonar. Hay que reconocer que en la TB pulmonar la principal sospecha diagnóstica se fundamenta en un estudio radiológico sugestivo, es una técnica sensible pero inespecífica.⁵⁷

La interpretación de radiografías de tórax en pacientes con VIH es aun mas complicado por las co-morbilidades asociadas y la presentación atípica de TB.

Es importante mencionar que en los pacientes con cuentas bajas de CD4+, los hallazgos pueden ser escasos o nulos encontrándose a menudo radiografías de tórax normales, debido a la pobre respuesta inflamatoria que presentan; mientras que en los pacientes con CD4 mayores de 200 los hallazgos radiográficos son habitualmente similares a los encontrados en pacientes sin infección por VIH .⁵⁸

MICOBACTERIOLOGIA

A pesar de los avances recientes, en el diagnostico micobacteriológico de TB, existen muchas limitaciones en su utilidad para el diagnostico de TB pediátrica. La confirmación bacteriológica de infección por TB rara vez se alcanza y los resultados de cultivos son tardíos, por lo que en la practica

clínica el diagnóstico de TB se basa más en la microscopía directa de diferentes especímenes.⁵⁹

La baciloscopia en esputo es poco sensible porque requiere la presencia entre 5000 y 10000 organismos por ml de muestra para obtener un resultado positivo y los hallazgos son positivos en 10-15% de niños con TB.

Tres aspirados consecutivos gástricos tienen una utilidad diagnóstica para *M. tuberculosis* de 30-50% de los casos, aunque algunos estudios han demostrado asilamientos tan elevados hasta 70%. Un reporte de Zambia demostró que el índice de baciloscopia de jugo gástrico era 5 veces más alto en niños VIH seronegativos que en VIH positivos.

El asilamiento de *M. tuberculosis* de cultivos de otros fluidos corporales o tejidos de niños con TB extrapulmonar es usualmente menor de 50%.⁶⁰

Algunos estudios indican que la inducción de esputo es preferible a lavado gástrico para obtención de muestras para el diagnóstico de TB pulmonar tanto en niños HIV positivos como negativos.

No obstante, con este procedimiento es preocupante la posibilidad de diseminación de la TB a otros pacientes y al personal de salud y se recomienda que sea llevado a cabo con los métodos adecuados de control de infecciones (habitaciones con presión negativa) y por personal entrenado⁶¹

Daniel Vargas y colegas presentaron una comparación preliminar del *string test* con inducción de esputo para el diagnóstico de tuberculosis en 160 pacientes adultos infectados con VIH a quienes se les realizó abordaje diagnóstico para tuberculosis y 52 VIH-positivos asintomático como grupo control en Lima, Perú. Estos pacientes no habían podido producir un espécimen adecuado o habían tenido un espécimen previo negativo. El cultivo de los especímenes obtenidos mediante el *string test* seguido de inducción de esputo detectó más casos de TB que los especímenes obtenidos únicamente por inducción de esputo incluyendo el diagnóstico

de un paciente con TB asintomático del grupo control. El *string test* ahora justifica su pronta valoración en niños con sospecha de TB en quienes al obtención de una muestra respiratoria diagnóstica es generalmente problemática. Se necesitan mayores estudios en gran escala comparativos de eficacia para definir con mayor precisión su sensibilidad y especificidad.⁶²

Tinción y examen microscópico.

El hallazgo de bacilos alcohol-ácido resistentes en frotis teñidos y examinados al microscopio es la primera evidencia de la presencia de micobacterias en una muestra clínica. Es el procedimiento más fácil y rápido que se puede efectuar, y aporta al clínico una confirmación preliminar del diagnóstico.

La técnica clásica de Ziehl-Neelsen o sus variantes y la tinción con fluorocromos (auramina-rodamina) son igualmente eficaces y se basan en el mismo principio. La ventaja de la fluorescencia es su mayor rapidez.⁶³

Para la correcta realización e interpretación de los resultados de un examen microscópico directo deben tenerse en cuenta los siguientes hechos: a) La alcohol-ácido resistencia es una propiedad común a todas las especies del género *Mycobacterium* y no sólo de *M. tuberculosis*. b) La no observación de BAAR en una muestra clínica no descarta el diagnóstico de TB, ya que es una técnica de sensibilidad limitada. c) Al informar los resultados del examen microscópico, el microbiólogo debe proporcionar al clínico una estimación aproximada del número de BAAR detectados.⁶⁴⁻⁶⁵

Todas las muestras clínicas sospechosas de contener micobacterias se deben sembrar (tras su adecuada digestión y descontaminación, si fueran necesarias) en medios de cultivo adecuados por las siguientes razones:

1. Los cultivos son mucho más sensibles que los exámenes microscópicos, al punto que pueden evidenciar un mínimo de 10 a 100 bacilos por ml de muestra clínica digerida y concentrada.
2. El aislamiento en cultivo puro es

necesario para poder identificar la especie de las cepas aisladas. 3. Si la baciloscopia es un índice de la eficacia del tratamiento, el cultivo permite asegurar la negativización y curación del paciente.

Medios de cultivo y condiciones de incubación.

Disponemos de diferentes tipos de medios adecuados para el aislamiento de micobacterias a partir de muestras clínicas.

Los más utilizados son los que tienen como base el huevo (Löwenstein-Jensen, Colestos, etc.) y los semisintéticos con agar (7H10 y 7H11 de Middlebrook). Algunas micobacterias, muchas de ellas relacionadas con el VIH, tales como *M. haemophilum*, *M. malmoense*, *M. genavense* y *M. avium subsp. paratuberculosis*, exigen suplementar los medios de cultivo con factores de crecimiento especiales (hemina, sangre, micobactina o citrato amónico férrico, etc.)

La incubación de los medios sembrados en una atmósfera enriquecida con un 5-10% de CO₂ favorece el crecimiento de *M. tuberculosis*. Cualquiera que sea el medio de cultivo utilizado, el tiempo transcurrido entre la recepción de la muestra y la emisión del resultado suele ser de 3 a 6 semanas⁶⁶

Nuevos métodos de cultivo

Nombre	Técnica
Producción de gas	
MYCO/BACT	detección colorimétrica de CO ₂
BACTEC 460	detección de ¹⁴ C
DIFCO ESP	incremento de presión

Consumo de oxígeno

MIGIT	no radiométrico automatizado
BACTEC 9000	no radiométrico automatizado
SEPTICHECK	liquido/sólido

La búsqueda de técnicas más rápidas y sensibles de cultivo ha permitido introducir en los laboratorios clínicos:

- 1) Los métodos radiométricos (sistema BACTEC)
- 2) Medios de cultivo bifásicos (MB-Septi-Check)
- 3) Técnicas adecuadas para aislar micobacterias de la sangre (hemocultivo).

1) Métodos radiométricos (sistema BACTEC).

El BACTEC 460 ha sido uno de los avances más importantes en cuanto a diagnóstico microbiológico.

Detectan automáticamente el crecimiento micobacteriano midiendo la cantidad de CO₂ producido por la metabolización de sustratos (ácidos grasos) marcados con ¹⁴C el cual se utiliza para la detección radiométrica del crecimiento. Se utilizan viales que contienen 4 ml de medio 7H12 de Middlebrook .

En relación a los sistemas tradicionales de cultivo el sistema BACTEC tiene las ventajas:

- a) Ahorro de tiempo (15-20 días) en la detección del crecimiento.
- b) Mayor sensibilidad, tanto para el aislamiento de *M. tuberculosis* como de otras micobacterias que el cultivo convencional (70-95% vrs 60-80% respectivamente).
- c) Posibilidad de identificar *M. tuberculosis* en 4-5 días y de realizar antibiogramas a los fármacos de primera elección (incluyendo la

pirazinamida) en tiempos medios de 3-6 días, en lugar de los 21-42 días que exigen los métodos convencionales.

El principal inconveniente del sistema BACTEC 460 reside en tener que trabajar con ^{14}C , lo que requiere disponer de los permisos necesarios para la manipulación y almacenamiento de este compuesto, por lo que ha sido reemplazado por el BACTEC MIGIT 960.

Para laboratorios de nivel II y III el sistema BACTEC es hoy día, sin duda, el avance diagnóstico más contrastado y útil en micobacteriología clínica.⁶⁷

No radiométricos: Existen también métodos de cultivo líquido que no emplean radioisótopos (Mycobacteria Growth Indicator Tube System (MGITS), MBBAC, ESPII) con iguales ventajas al anterior y además que son automatizados, incorporan al medio de cultivo un compuesto que emite fluorescencia al descender la tensión de oxígeno, mismo que ha sido consumido a consecuencia del crecimiento bacilar.

En el sistema BACTEC MIGIT 960 todo tipo de especímenes pulmonares y extrapulmonares (excepto sangre y orina) pueden ser procesados inoculándolos en los tubos MIGIT. Cada tubo contiene un componente fluorescente sensible a la presencia de oxígeno, son incubados a 37 grados celsius y monitorizados cada 60 minutos para determinar incremento en la fluorescencia.

2) Medios de cultivo bifásicos no radiométricos (MB-Septi-Check).

Hace unos años se introdujo en el mercado un sistema bifásico para el cultivo de micobacterias (MB-Septi-Check), con el que se pretendía obtener una rapidez y sensibilidad similares a las del BACTEC sin necesidad de utilizar isótopos radiactivos. Se trata de frascos que contienen 20 ml de caldo 7H12 a los que puede anexionarse a la parte superior un dispositivo que contiene diferentes medios sólidos.

Este sistema presenta algunas ventajas sobre el BACTEC, ya que, al permitir utilizar inóculos de siembra mayores, posee una sensibilidad algo

superior a la de aquél. Además, ofrece la posibilidad de disponer de un crecimiento sobre la fase sólida que puede utilizarse para practicar pruebas de identificación sin necesidad de realizar resiembras adicionales, lo que facilita además la detección de cultivos mixtos.

Los principales inconvenientes del MB-Septi-Check son los siguientes:

La detección del crecimiento es más lenta que con el BACTEC, no permite realizar estudios de sensibilidad *in vitro* y falla con frecuencia el sistema de identificación presuntiva de tuberculosis que lleva incorporado en su fase sólida.

3) Técnicas de hemocultivo para micobacterias. El notable incremento de las infecciones diseminadas por *M. avium-intracellulare* y *M. tuberculosis* en pacientes con VIH/SIDA ha estimulado la introducción de técnicas que permiten la detección de micobacterias en sangre. Entre estas técnicas las más eficaces son las de lisis centrifugación y las radiométricas.

Ambas tienen una sensibilidad similar. La principal ventaja de la lisis-centrifugación es que permite cuantificar el número de bacterias por mililitro de sangre y controlar seriadamente la eficacia del tratamiento administrado.

Su uso está indicado en pacientes con SIDA con linfocitos CD4 por debajo de 50 y fiebre de origen desconocido.⁶⁸

NUEVAS TECNICAS DE IDENTIFICACION

Los estudios rutinarios de identificación son efectuados por técnicas bioquímicas que implican lentitud, complejidad y falta de reproducibilidad, por lo que se han desarrollado nuevas técnicas de identificación que incluyen Test NAP en BACTEC 12B, la cromatografía y la identificación por métodos moleculares.

Técnicas bioquímicas.

La identificación de *M. tuberculosis* puede realizarse mediante pruebas bioquímicas sencillas. Las cepas de *M. tuberculosis* son característicamente no cromogénicas, niacina positiva, reducen nitratos a nitritos y poseen una catalasa termolábil.

Las evidentes limitaciones de las técnicas de identificación bioquímica estándar (complejidad, lentitud y falta de reproducibilidad) han estimulado el desarrollo de técnicas de identificación rápidas alternativas: técnicas de identificación cromatográfica y sondas genéticas.⁶⁹

Test de NAP en Bactec 12B.

Un precursor del cloranfenicol (p-nitro-alfa-acetilamino-beta-hidroxiopropiofenona) inhibe el crecimiento del complejo *M. tuberculosis*. Se inocula la muestra ha identificar en dos frascos Bactec 12B, uno de los cuales contiene NAP. Si en dicho frasco no crece la micobacteria, significa que pertenece al complejo *M. tuberculosis*.

Cromatografía

Las micobacterias se caracterizan por poseer una pared celular extraordinariamente rica en lípidos. Algunos de estos lípidos (como los ácidos micólicos) son característicos de este género, encontrándose además diferencias cuantitativas y cualitativas en la composición lipídica de las diferentes especies.

Entre los lípidos micobacterianos más estudiados por su valor taxonómico destacan los ácidos micólicos y otros ácidos grasos de la pared celular. Los ácidos micólicos pueden separarse con relativa facilidad en su forma de ésteres metílicos por cromatografía en capa fina (CCF) en gel de sílice. El estudio de los ácidos micólicos por CCF separa las micobacterias en grupos y la identificación definitiva se lleva a cabo por cromatografía de gases (CG).⁷⁰

TECNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR

Técnicas de hibridación

La biología molecular ha permitido la detección de la secuencia de ADN o ARN de diferentes micobacterias. Se han preparado sondas con secuencia de ácidos nucleicos complementarios a las secuencias de ADN o ARN de diferentes especies (entre ellas la de *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. Kansasii*, *M. gordonae*.) las cuales están marcadas con isótopos radiactivos (sondas calientes) o sustancias cromógenos (sondas frías). La sonda genética es capaz de fijarse o hibridarse con su fragmento homólogo de la muestra en estudio, la cual ha sido previamente desnaturalizada por medios físicos. La hibridación de la sonda a su fragmento homólogo se detecta fácilmente gracias al marcador incorporado. Las principales ventajas de estas técnicas son la rapidez y la especificidad. Sus desventajas son el costo y que no puede identificar especies dentro del complejo *M. tuberculosis*.⁷¹⁻⁷²

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica *in vitro* que imita la habilidad natural de duplicar el ADN. En el campo del diagnóstico clínico, los laboratoristas pueden tomar una muestra mínima de material genético, copiar la secuencia de interés las veces necesarias y generar suficiente cantidad de muestra para detectar la presencia o ausencia de patógenos y en muchos casos realizar la cuantificación del mismo. Esta es una tecnología patentada que genera múltiples copias de una secuencia específica de nucleótidos de un organismo. La tecnología de PCR, ideada por Kary Mullis, y desarrollada por un equipo de científicos de la Corporación Cetus, fue publicada por primera vez el año 1985 en la revista

científica Science y es reconocida como una de las herramientas más poderosas de la biología molecular.

Hay disponibles múltiples sistemas basados en la amplificación de los ácidos nucleicos de las micobacterias. Existen múltiples objetivos para amplificar incluyendo fragmentos de DNA o RNA. El más frecuentemente estudiado y amplificado en TB es *IS6110*.

De acuerdo a la FDA, la sensibilidad de estas pruebas para diagnóstico de TB, comparada con la de los cultivos es de aproximadamente 95% en pacientes con baciloscopías positivas pero solo de alrededor de 50% en pacientes con baciloscopías negativas.

La PCR al multiplicar en millones de veces un fragmento determinado de ADN permite la identificación de diferentes maneras:

- Amplificar con iniciadores apropiados y detectar después un fragmento específico de una determinada especie por electroforesis y tinción con bromuro de etidio.
- Amplificar un fragmento de ADN común a todas las especies de micobacterias y después identificarla por medio de sondas genéticas específicas.
- Amplificar un fragmento de ADN común a todas las especies de micobacterias, someterlas a lisis con enzimas de restricción y visualizar los fragmentos de restricción en gel de agarosa. Esta metodología denominada PCR y análisis del polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (PCR-RFLP) es de gran utilidad en la identificación rápida de las especies de *Mycobacterium*.⁷³⁻⁷⁴

El sistema Amplicor TB® (Roche Diagnostic Systems) se ha introducido en el mercado y ya está preparado para su presentación en su versión totalmente automatizada (Cobas Amplicor®). En este sistema se amplifica por PCR un fragmento del gen que codifica para el ARN ribosómico 16S, posteriormente se hibrida el producto amplificado a una sonda marcada

enzimáticamente y la detección del producto amplificado se realiza mediante una reacción colorimétrica. Evaluada en dos estudios recientes en su versión no automatizada, esta prueba ha resultado tener una sensibilidad del 66-82% y especificidades del 99-100% en muestras respiratorias. Los valores predictivos positivos y negativos oscilan entre 91-100% y 97-98%, respectivamente. En estudios preliminares de evaluación en muestras clínicas diferentes a las respiratorias, el sistema Amplicor TB® tiene una eficacia mucho menor. Los inhibidores de la ADN polimerasa presentes en algunas muestras clínicas pueden ser causa de falsos negativos.⁷⁵

Dentro de lo que se han dado en llamar técnicas de amplificación de segunda generación, el sistema Gen-Probe Amplified MTD (Gen-Probe, Inc., USA), diseñado inicialmente también para trabajar con muestras respiratorias, se ha adaptado recientemente para ser utilizado en líquidos estériles, aspirados gástricos, orinas, sangre y otras muestras clínicas. De los sistemas actualmente comercializados, es el que ha sido más evaluado y del que se dispone de mayor experiencia clínica. En el sistema *Gen-Probe Amplified MTD* se amplifica ARNr 23S mediante la síntesis de ADN y ARN, utilizando una mezcla enzimática compuesta principalmente por transcriptasa inversa y ARN polimerasa. La utilización de una diana de amplificación particularmente abundante como es el rARN aumenta el rendimiento del proceso de amplificación de los ácidos nucleicos y los hace resistentes a la amplificación de errores de transcripción que pueden tener lugar en los primeros ciclos de amplificación. La utilización de ARN, mucho más lábil que el ADN, y un único tubo de reacción para cada muestra durante todo el proceso, previene el riesgo de contaminación por amplicones.

La detección de las secuencias diana en los amplicones tiene lugar mediante una sonda específica de ADN marcada con éster de acridina quimioluminiscente. Un proceso químico selectivo, prueba de protección

de la hibridación (HPA), permite distinguir las sondas hibridadas sin utilizar complejos métodos físicos de separación.

El resultado final es una prueba de sensibilidad superior al cultivo y exquisita especificidad, que no requiere instalaciones o instrumentación sofisticada y que puede llevarse a cabo en la rutina de la mayoría de laboratorios clínicos, permitiendo la realización de 50 muestras clínicas en menos de 5 horas.

Debido a que la presencia de rARN en las células se cuenta por miles de copias, la probabilidad de iniciar una amplificación correcta es mucho más elevada que en aquellas pruebas en las que se utiliza como blanco una o escasas copias de ADN. En la práctica, los principales inconvenientes de esta técnica son la posibilidad real de contaminación por amplicones por defectos de manipulación y que aún no disponemos de ellas en su versión completamente automatizada.

Las técnicas de amplificación genómica se han utilizado para mejorar y acortar el tiempo de diagnóstico en la población adulta. En la población infantil existen menos estudios y, con frecuencia, con resultados discordantes.

Varios estudios en niños han encontrado que la PCR en muestras clínicas tiene una sensibilidad de 40-60% en comparación con el diagnóstico clínico.

Esta comparación favorece a los cultivos estándares que tienen una sensibilidad de 30-40%. La especificidad de PCR varía de 80-96% pero depende del tipo de ensayo utilizado.

Además hasta 39% de los niños sin hallazgos clínicos o radiológicos de enfermedad por TB tienen PCR positivos.

Pierre et al. utilizó un PCR basada en *IS6110* para detectar *M. tuberculosis* en aspirados gástricos de 22 pacientes pediátricos con TB pulmonar. Encontraron que 15 (25%) de 59 muestras fueron positivas; así, Smith et al encontraron un porcentaje de sensibilidad en el diagnóstico por PCR del

40%, Delacourt et al superior al 80% con respecto al diagnóstico clínico y Starke et al. utilizando un ensayo de PCR basado en *IS6110* en aspirado gástrico al comparar con el diagnóstico clínico tuvo una sensibilidad de 40% y una especificidad de 80%, 6 controles presentaron PCR con falsos positivos⁷⁶⁻⁷⁹

En otro estudio realizado por Margarita Bolaños y colaboradores encontraron un porcentaje de sensibilidad del 18.2%, inferior a los de estos autores.⁸⁰

Los resultados de PCR en niños muestran una arbitrariedad en distinguir entre infección y enfermedad por TB y en la actualidad las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (AAN) tienen un papel útil pero limitado en la evaluación de enfermedad por TB en los pacientes pediátricos.

Una prueba de AAN negativo nunca elimina a la TB como una posibilidad diagnóstica y un resultado positivo, no representa la confirmación absoluta, puesto que se ha comunicado hasta un 20% de resultados falsos positivos en sujetos controles.

Los métodos de PCR tienen un rol limitado en el diagnóstico de TB en niños, sin embargo pueden ser de utilidad cuando el diagnóstico no se puede establecer fácilmente utilizando los estándares clínicos, microbiológicos o epidemiológicos. También la PCR puede tener un rol futuro en el diagnóstico de TB en pacientes inmunocomprometidos como ser pacientes con serología positiva para VIH para quienes como ya se describió anteriormente existen mayores limitaciones para la detección de TB.⁸¹

Con estas limitaciones que existen, los resultados de PCR por si solos son insuficientes para diagnosticar TB en niños. La detección de PCR en otros fluidos o tejidos, como líquido cefalorraquídeo, han demostrado ser menos exitosos.

Hay estudios en pacientes pediátricos con TB que demuestran la utilidad de combinar PCR, la actividad de deaminasa de adenosina (ADA, una enzima de linfocitos T) y cuenta absoluta de linfocitos (CAL) en fluidos (pleural, ascítico, y pericardio) de pacientes con TB.

Con reporte de sensibilidad y especificidad de PCR, ADA (>38 IU/l) y CAL (>275/mm³) de 74% y 88%, 81% y 75%, 90% y 83% respectivamente en diagnóstico de efusiones tuberculosas. La sensibilidad de PCR, ADA y CAL fue de 100%, 100% y 88%, respectivamente, en TB confirmada. Cuando los estudios se combinaron, la sensibilidad se incremento (90–100%) a expensas de la especificidad. Cuando ambos tests fueron positivos, entonces la especificidad se incremento marcadamente. Concluyendo que PCR de fluidos por si solo no debe de confiarse como único estudio; sino el combinar PCR con ADA o CAL puede ser de mayor utilidad en el diagnóstico de efusiones de TB en niños. Sin embargo la utilidad de estos resultados en pacientes con coinfección de TB y VIH no ha sido valorada y son poco prometedores por la alteración de la inmunidad celular (linfocitos T) en dichos pacientes⁸²

Modificaciones en el PCR

Se desarrollo un ensayo de PCR basado en codificación de DNA para la subunidad 16S de rRNA (16S rDNA). Se combino este con el PCR basado en *IS6110* para la detección de *M. tuberculosis* en un ensayo de PCR "multiplex". En PCR con pruebas de género específico, si más de una especie de micobacterias esta presente en el espécimen habrá competencia para los iniciadores entre dos 16S rDNA blanco. Cuando uno de los blancos esta presente en exceso de por lo menos 100 veces, solo ese blanco será detectado⁸³

Sin embargo con el multiplex PCR es menos probable el error en la detección de *M. tuberculosis*, aun en la presencia de un gran exceso de otras micobacterias, ya que no hay competencia por los iniciadores entre los *IS6110* blanco de *M. tuberculosis* y los 16S rDNA blanco de otras

micobacterias. Otra ventaja de usar dos blancos para *M. tuberculosis* con esta PCR es que excepcionalmente *M. tuberculosis* sin *IS6110* pueden ser identificadas fácilmente con la PCR 16S rDNA. El *IS6110* PCR tiene un menor límite de detección que el PCR basado en 16S rDNA ya que hay múltiples copias de *IS6110* en el genoma de *M. tuberculosis* y una sola copia de la secuencia de 16S rDNA.

La ventaja de esta técnica de multiplex PCR para diagnosticar infección paucibacilar también ha sido demostrada. La identificación directa de especímenes clínicos es posible y los resultados están disponibles en 48 horas. Las micobacterias que son difíciles de cultivar y que no son frecuentemente detectadas por ejemplo: *M.genavense* y *M. ulcerans*, son fácilmente identificadas en este ensayo de PCR como se ha documentado en pacientes con VIH.

Se recomienda que la identificación basada en PCR se realice en especímenes con microscopia positiva, cuando hay evidencia clínica que sugiere que otras micobacterias además de *M. tuberculosis* puedan estar involucradas. Ante especímenes con estas características la sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo de PCR son cerca o igual a 100%.⁸⁴

Se han realizado una serie de otras modificaciones de PCR reportada en la literatura para mejorar sus resultados, tanto en los iniciadores como en las técnicas, que han sido reportadas como de sumo beneficio.

Narayanan et al. evaluó el uso de un nuevo set de iniciadores (TRC) en PCR para la detección de meningitis tuberculosa (MTB) en niños. Los niveles de concordancia de PCR *IS6610* y PCR TRC en líquido cefalorraquídeo para diagnóstico de MTB fue de 80 y 86% respectivamente. Los autores concluyen que la sensibilidad de PCR se puede incrementar cuando utilizamos ambos iniciadores *IS6110* y TRC (4).

85

También se han desarrollado un PCR que se basa en la amplificación de un fragmento de los genes que codifican el antígeno 85 de la micobacterias (PCR/ag85) y PCR basada en la detección de citocinas.⁸⁶⁻⁸⁷ Sin embargo aunque hay resultados prometedores con estas modificaciones en PCR, no hay evidencia de su utilidad en el diagnóstico de TB en pacientes pediátricos con coinfección con VIH.

El uso de lavado bronco alveolar en niños se ha asociado con un menor aislamiento en cultivos que muestras obtenidas por lavado gástrico, sin embargo, la broncoscopia puede ser útil en el diagnóstico de TB endobronquial y en la exclusión de otros agentes causales de infecciones oportunistas, especialmente en huéspedes inmunocomprometidos como en pacientes con VIH en quienes otras infecciones oportunistas pueden coexistir o imitar la TB⁸⁸

SEROLOGÍA Y DETECCIÓN DE ANTIGENOS

A pesar de contar con muchas publicaciones en las últimas décadas, la serología tiene poca utilidad para el diagnóstico de rutina de TB, tanto en adultos como en niños. Algunos estudios proponen el uso de la técnica de ELISA para detectar anticuerpos contra las células bacterianas en general, diversos antígenos purificados o complejos antígenicos de *M. tuberculosis* en niños.

Rosen utilizó soncados de micobacterias en una muestra de ELISA en muestras de 31 niños con TB clínica y encontró una sensibilidad de 26% y una especificidad de 40%.⁸⁹

Hussey et al. utilizó una suspensión de *M. tuberculosis* para detectar anticuerpos en suero de 132 niños con cuadros clínicos de TB pulmonar; el estudio presentó una sensibilidad de 62% y una especificidad de 98%. Se obtuvo mayor sensibilidad en pacientes con cultivos positivos (69%, n = 35), TB miliar (100%, n = 6), MTB (80%, n = 15), y derrame pleural (78%, n = 16).⁹⁰

Delacourt et al. utilizó ELISA para detectar anticuerpos IgG e IgM dirigidos contra el antígeno micobacteriano A60 en niños con TB. A una especificidad elegida de 98%, IgG se detectó en 68% de los niños con enfermedad clínica. La detección de IgM tuvo una sensibilidad de solo 19%.⁹¹

Ninguna prueba serológica para diagnóstico de TB ha tenido una adecuada sensibilidad, especificidad o reproducibilidad bajo varias condiciones clínicas que haya demostrado ser de utilidad en diagnóstico de TB en niños.

En general la sensibilidad en detección de casos de TB en pacientes con VIH con cualquier antígeno declina en comparación con las de los pacientes VIH seronegativos con TB.

Muchos investigadores han utilizado una mezcla de antígenos como ser CFA total, PPD y antígeno A60 y ha encontrado niveles más bajos en dichos pacientes que en pacientes con TB VIH seronegativos.⁹²⁻⁹⁴

Sin embargo B. Ramalingam y colaboradores demostraron en un estudio en adultos que los antígenos 38 y 27 kDa fueron de mucha utilidad diagnóstica tanto en pacientes con coinfección HIV-TB como en pacientes HIV-negativos independientemente de la severidad de su inmunosupresión y status de su baciloscopia en esputo. Adicionalmente la medición de anticuerpos IgA junto con IgG resultaron en mejores resultados.

El uso de ambos antígenos ofreció una sensibilidad de 82% en baciloscopia positivas y 69% en baciloscopia negativas. No hubo diferencias en la respuesta a anticuerpos entre los casos VIH-TB relacionados con conteos de CD4. Por lo que este estudio concluye que la combinación de antígenos de 38 y 27 kDa (mpt 51) mostró ser de utilidad diagnóstica en VIH-TB independientemente de la severidad de inmunosupresión y positividad o negatividad de la baciloscopia.⁹⁵

Dichos resultados parecen ser prometedores en pacientes con VIH-TB sin embargo se necesitan mas estudios sobre todo en pacientes pediátricos para demostrar su valor diagnóstico.

La medición de ácido tuberculostearico y del ácido micólico micobacterial ha sido utilizado para detectar *M. tuberculosis* en especímenes clínicos⁹⁶

Brooks et al. demostraron una sensibilidad de 95% y especificidad de 91% cuando un perfil cromatográfico de ácidos carboxílicos y detección de ácido tuberculostearico fue combinado y comparado con resultados de cultivos y hallazgos clínicos en pacientes adultos con TB pulmonar sin embargo estas técnicas requieren de equipo avanzado y personal experimentado, el cual no están disponibles en lugares donde TB infantil es común que es en países de bajos recursos económicos. Su sensibilidad y especificidad se desconoce en general en niños y/o en pacientes co-infectados con VIH-TB.⁹⁷

El desarrollo de una tira reactiva simple y costeable en sangre completa, que pudiera detectar infección por TB en los infantes infectados con VIH contribuiría significativamente en diagnosticar TB tempranamente y proporcionar el tratamiento apropiado y oportuno evitando el uso inapropiado y excesivo de medicamentos.

Alguien en el mundo se infecta con el bacilo de TB cada segundo, uno de cada tres es un niño. Las estadísticas son muy sombrías pero no irreversibles con el esfuerzo combinado de científicos, personal de salud, y gobiernos nacionales en la búsqueda de métodos diagnósticos mejorados para la detección oportuna y acertada de TB.⁹⁸

JUSTIFICACION

Pese a los avances en la micobacteriología, el diagnóstico de TB pediátrica aun continúa siendo un gran desafío y un reto aun mayor en el paciente pediátrico infectado con VIH, ya que la enfermedad por VIH y TB tienen muchas características clínicas y radiológicas en común y es a veces imposible excluir acertadamente TB en niños VIH positivos.

La TB no tratada en niños infectados con VIH es rápidamente fatal por lo que el sobre diagnóstico es común con inicio de terapia empírica que a veces resulta en tratamientos inapropiados. Por otro lado es de suma importancia diagnosticar oportunamente la coinfección de TB en pacientes con VIH ya que su manejo mejora significativamente su condición clínica y a diferencia de otras infecciones oportunistas presentes en paciente con VIH, la TB en estos casos responde de forma adecuada al tratamiento.⁹⁸

En la actualidad varias técnicas de diagnóstico han evolucionado, y su utilidad valorada para mejorar el diagnóstico de TB infantil.

Sin embargo existe una necesidad inmediata por determinar cuales son los métodos diagnósticos de mayor utilidad, sensibilidad y especificidad para identificar TB acertadamente y oportunamente en pacientes pediátricos con VIH, por lo que considere importante revisar la literatura para poder hacer un análisis de la información existente que nos permita establecer el método diagnóstico de mayor utilidad para el diagnóstico de TB.

En caso contrario plantear la necesidad urgente de asesorar la validez de los métodos existentes y/o la necesidad imperativa de nuevos métodos diagnósticos relevantes sobre todo para países con escasos recursos.

METODOLOGIA

Pregunta de investigación

¿Cuáles son los métodos diagnósticos con mayor utilidad diagnóstica para la detección de TB en paciente pediátrico con VIH?

Estructura de la pregunta PICO

Población	Pacientes pediátricos con diagnóstico de VIH con TB
Intervención	Cual es la utilidad diagnostica de los diferentes métodos diagnósticos de TB
Comparación	Comparación de los diferentes métodos diagnósticos de TB en pacientes pediátricos con VIH
Resultados(Outcome)	Al comparar los métodos diagnósticos se determinara el de mayor utilidad para el diagnostico de TB en pacientes con VIH

OBJETIVO

Determinar cuales son los métodos diagnósticos de mayor utilidad para la detección de TB en el paciente pediátrico con VIH reportados en la literatura.

CRITERIOS PARA LA VALORACION DE LOS ESTUDIOS DE ESTA REVISION

Tipos de estudios

Transversal, estudio de cohorte prospectivo, estudio caso-control.

Tipos de participantes

Pacientes de 0 a 14 años con sospecha de TB de acuerdo a los criterios descritos en las cuadros a quienes se les hizo abordaje diagnóstico para TB de acuerdo a las diferentes estudios sometidos ha valoración de utilidad incluyendo pacientes VIH (+) y VIH (-).

La TB confirmada se definió como el aislamiento por medio de cultivo de *M. tuberculosis* de cualquier muestra clínica y/o baciloscopia positiva.

La determinación de la serología por VIH fue realizada mediante: ELISA para VIH de tercera generación con prueba confirmatoria con Western blot y en menores de 18 meses se utilizo PCR DNA para VIH, o la detección de antígenos core p24 mediante inmunoensayo enzimático.

Métodos diagnósticos

De acuerdo a los artículos incluidos se determinó la utilidad diagnóstica para TB pediátrica de los siguientes métodos diagnósticos:

1. PPD
2. Ensayo basado en células T (ELISPOT)
3. Sistema de puntuación diagnóstica de TB pediátrica
4. Diagnóstico bacteriológico
5. Criterios diagnósticos para MTB
6. Radiografía de tórax

Tipos de medidas de resultado

Medidas de resultado primarias

1. Sensibilidad
2. Especificidad
3. Valor predictivo positivo
4. Valor predictivo negativo
5. Razón de probabilidad positiva
6. Razón de probabilidad negativa

Se determinaron dichas medidas en todas las pruebas descritas de los artículos incluidos, tomando las proporcionadas por los diferentes estudios y en los que no fueron proporcionadas, tomando los datos se llevaron a cabo las respectivas determinaciones y se calculó razón de momios y riesgo relativo en un estudio en particular (Mahdi, 1999).

ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA PARA LA IDENTIFICACION DE LOS ESTUDIOS

La estrategia incluyó búsquedas electrónicas en el registro de base de datos de Internet de Cochrane, PubMed, Scielo, Artemisa, Ovid, Lilacs, EMBASE y referencias cruzadas de revisiones anteriores, con las palabras de búsqueda: AIDS, HIV, tuberculosis, HIV and tuberculosis, diagnosis of tuberculosis in children with AIDS. En pubmed en la sección de preguntas clínicas (clinical queries) se limitara a artículos de diagnóstico con las palabras HIV and tuberculosis, HIV, Tuberculosis.

Se realizaron los siguientes límites: All child: 0-18 years, clinical queries, randomizad controlled trial, humans.

METODOS DE LA REVISION

Selección de estudios

Se realizó la identificación del título y el resumen de cada cita identificada con la estrategia de búsqueda, para valorar si era elegible. Se obtuvo el texto completo de cada estudio posiblemente elegible y se tradujeron los estudios cuando fue necesario. Se utilizó un formulario de obtención de datos para ayudar a la extracción de la información y los datos pertinentes de cada estudio incluido. Se evaluó cada artículo de forma independiente para determinar si el estudio era elegible incluyendo los criterios de selección por 3 revisores. Los desacuerdos fueron solucionados por consenso.

DESCRIPCION DE LOS ESTUDIOS

Se identificaron 35 estudios como potencialmente elegibles. 29 fueron excluidos y 6 incluidos para la revisión.

Estudios excluidos

Jibrin 2006, Harries 2006, Lopman 2006, Setel 2006, Pahwa 2006, Amirili 2004, Viriyavejakul 2000, Selwyn 1998, Jean 1997, Graham 1997, Soto 1992, Naucher 1991, Gazzolo 1985, Saddiqui 2006, Sadr 2005, Mathur 2005, fueron excluidos porque no cumplían con los criterios de inclusión ni con los objetivos de la revisión.

Lopez 1994, Ratanasuwan 1997, Arias 2007, Kikuchi 1992, Mattar 1992, Ribera 1991, Querol 1993, Finch 1997, se excluyeron porque incluían adultos en su análisis.

Akhila 2007, Delacourt 1993, Detjen 2007 , Kiwanuka 2005, Verbon 1993, se excluyeron ya que no incluyeron pacientes pediátricos con serología positiva para VIH.

Estudios incluidos

Se incluyeron 6 estudios en esta revisión. Todos los estudios fueron realizados desde 1999 hasta 2006 por investigadores de hospitales de Estados Unidos de América, Sudáfrica, Reino Unido, Perú, Zambia y Holanda.

Los estudios incluyeron un total de 913 pacientes de los cuales 327 tuvieron serología positiva para VIH y 586 con serología negativa para VIH. Cuadro 1.

La edad limite fue de 0-168 meses con un promedio de edad de 63.7 meses (5.3 años). Cuadro 1.

De acuerdo a los criterios de inclusión todos los estudios valoraron los diferentes métodos de diagnostico para TB en pacientes pediátricos, 5 de ellos incluyendo tanto pacientes VIH (+) como VIH (-) y uno de ellos (Cardich ,2006) incluyo exclusivamente pacientes VIH(+).

Los métodos diagnósticos que valoraron los estudios fueron: PPD, ensayo basado en células T (ELISPOT), sistema de puntuación diagnostica para TB, diagnostico bacteriológico, criterios para diagnostico de MTB, y radiografía de tórax. Cuadro 2.

RESULTADOS

De acuerdo a los diferentes métodos diagnósticos evaluados se obtuvieron los siguientes resultados (cuadros 4,5):

PPD

Todos los estudios incluyeron PPD, ya sea como criterio de inclusión para realizar otro tipo de abordaje diagnóstico de TB, o como en el caso de 3 estudios (Mahdi 1999, Van der Weert 2006, Cardich 2006) evaluando la utilidad diagnóstica de PPD para TB e incluyeron 267 pacientes pediátricos VIH (+) y VIH (-).

Los resultados de sensibilidad y especificidad descritos en el cuadro 4 van desde cero en el estudio realizado en Perú con 47 pacientes VIH positivos, hasta 25% en un estudio con una muestra similar de 52 pacientes en Sudáfrica y de 45% en pacientes con MTB.

Ensayo basado en células T (ELISPOT)

Un estudio (Liebeschuetz, 2004) que incluyó 249 pacientes evaluó la utilidad de ensayo basado en células T para diagnóstico de TB en la práctica clínica de rutina en una región con alta prevalencia de VIH comparado los resultados con PPD. Se reportó una sensibilidad de 83% y 63% respectivamente. Se aumenta la sensibilidad con la combinación de ambas pruebas a 91% pero no diferencian en este grupo los pacientes VIH (+) de los VIH (-).

La sensibilidad de PPD fue afectado significativamente por la edad de los pacientes, menor de 3 años (a 51%), desnutrición (a 44%), y seropositividad por VIH (a 36%) a diferencia de ELISPOT cuya sensibilidad no fue significativamente afectado por dichos factores reportando 85%, 78% y 73% respectivamente en dichos grupos.

Sistema de puntuación diagnóstica de TB

Un estudio (Rheenen 2002) evaluó el uso del sistema de puntuación diagnóstica de TB en una área endémica de VIH.

De los 147 pacientes que incluyó el estudio, en base a serología para VIH, y hallazgos clínicos fueron divididos en 4 grupos: niños con TB (23 VIH seropositivos; 52 VIH seronegativo), niños sin TB (21 VIH positivos y 51 VIH seronegativo).

La diferencia de los puntajes para TB entre los grupos no fue significativa.

Diagnóstico bacteriológico

Todos los estudios incluidos tomaron, ya sea como criterio de inclusión para diagnóstico de TB y /o parámetro de referencia de acuerdo a las diferentes pruebas evaluados, la confirmación bacteriológica para TB mediante el aislamiento de *M. tuberculosis* por cultivo y/o baciloscopia positiva.

Un estudio, Zar 2005 valoró la utilidad de diferentes especímenes: esputo inducido vs lavado gástrico. La mayoría de los pacientes (94%) tuvieron 3 muestras de lavado gástrico y tres muestras de esputo inducido (91%). Se identificaron 14 casos más de TB de los especímenes obtenidos a través de inducción de esputo que de lavado gástrico. La ocurrencia de cultivo o baciloscopia positiva para TB no difirió entre niños VIH positivos o negativos. Una muestra única de esputo inducido, generó el doble de aislamiento que los casos positivos de una muestra única obtenida por lavado gástrico.

Criterios diagnósticos para MTB

Un estudio (Van der Weert, 2006) valoró los criterios diagnósticos para MTB en pacientes pediátricos VIH (+) en comparación con los hallazgos en pacientes VIH (-).

No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la sintomatología, salvo por el único hallazgo neurológico significativamente diferente en ambos grupos que fue, alteración de la consciencia presentandose en 73.1% de los casos de pacientes VIH (-) vs 50% de pacientes VIH (+).

Significativamente mas pacientes VIH (+) tenían evidencia de TB en radiografía de tórax que los VIH (-). Los hallazgos clásicos de MTB en TAC cerebral (hidrocefalia obstructiva y aracnoiditis basal fueron menos prominentes en los pacientes con serologia positiva para VIH).

Aunque no es el objetivo del estudio se reporto una mortalidad de 23.5% en el grupo VIH (+) y ninguno de los pacientes VIH (-).

Radiografía de Tórax

Todos los estudios incluyeron como prueba de abordaje para diagnostico de TB la radiografía de tórax. Dos estudios (Van der Weert 2006 y Cardich 2006) valoraron la utilidad diagnostica de radiografía de tórax para TB, el primero en el diagnostico de MTB reportando una sensibilidad en VIH (+) de 85% y en VIH (-) de 64%. El segundo estudio que incluyo únicamente pacientes VIH (+) reporto una sensibilidad de 88% pero una especificidad de 0% para diagnostico de TB.

DISCUSION

El diagnóstico de TB pediátrica constituye un desafío substancial sobre todo en la era de la epidemia de VIH.

El desarrollo de métodos diagnósticos con mayor sensibilidad y especificidad no han encontrado lugar en la evaluación clínica de rutina de pacientes pediátricos con sospecha de TB.

El criterio clínico, particularmente PPD, cambios radiológicos y antecedente epidemiológico de exposición a un contacto adulto con TB, constituyen en la actualidad el método diagnóstico estándar.

La dificultad en hacer un diagnóstico acertado de TB en niños ha condicionado el desarrollo de diferentes sistemas diagnósticos como ser: el sistema de puntuación diagnóstica para TB, algoritmos diagnósticos, y clasificaciones diagnósticas que reflejan diferencias en el abordaje de TB pediátrica en los diversos contextos. Existe un esfuerzo por racionalizar el diagnóstico de TB pediátrica mediante la cuidadosa y sistemática recolección de la información disponible sobre los diferentes abordajes disponibles. La mayoría de los abordajes diagnósticos surgieron en la era pre VIH, y una minoría fueron adoptados a una población con alta carga de VIH o desnutrición.⁹⁹

Hay datos discrepantes en relación a la reactividad a PPD en pacientes VIH (+). En el estudio realizado por Mahdi, 1999 un PPD =10 mm ha sido reportado que varíe entre VIH (+) y VIH (-) de (0 a 38% y 70%, respectivamente). Lo que sugiere que el PPD es de menor utilidad que lo reportado en otros estudios. Una explicación a esto podría ser que los niños en este estudio estaban más inmunocomprometidos, ya que el 50% de los niños VIH (+) tenían una disminución severa del conteo de los

linfocitos CD4 y un 35% adicional de los niños tenían una disminución moderada del conteo de CD4.

Las limitaciones del uso del conteo de linfocitos CD4 como marcador de inmunocompetencia en niños VIH (+), incluyen un rango amplio de valores normales y el hecho de que el conteo de CD4 no refleja la capacidad funcional de los mismos.¹⁰⁰

El sistema de puntuación diagnóstica para TB en una área de alta prevalencia de VIH tuvo una muy baja especificidad en comparación con el 95% reportado en Papúa-Nueva Guinea, país donde inicialmente se desarrolló este sistema, con una población con baja prevalencia de VIH. Este estudio recalca la falta de certeza diagnóstica de los abordajes diagnósticos en el contexto clínico de una elevada carga de VIH. Sin embargo el sistema de puntuación diagnóstica para TB aun puede ser de utilidad como un instrumento de tamizaje para identificar niños con factores de riesgo que necesiten un abordaje diagnóstico más preciso para TB.¹⁰¹

En una población que es representativa de la mayor carga global de TB pediátrica demostró que el ELISPOT tiene una mayor sensibilidad que el PPD para la detección oportuna de *M. tuberculosis* en niños con TB activa, especialmente aquellos que están desnutridos, e infectados por VIH. Utilizados juntos ELISPOT y PPD demostró una mayor sensibilidad diagnóstica en niños africanos con sospecha de TB activa.¹⁰²

En el estudio de Zar, 2005 se demostró que el rendimiento diagnóstico de inducción de esputo fue mejor que el de lavado gástrico en pacientes pediátricos con sospecha de TB pulmonar. El aislamiento de una muestra de esputo inducido fue equivalente a tres muestras de lavado gástrico

consecutivos, la practica clínica recomendada para la confirmación microbiológica en pacientes pediátricos con sospecha de TB. En total el asilamiento de *M. tuberculosis* de una muestra de esputo inducido fue más alto que el de los lavados gástricos. La inducción de esputo pudo realizarse aun en niños muy pequeños. Tal inducción fue bien tolerada y pudo realizarse efectivamente y seguramente en niños menores incluyendo VIH positivos.

Un hallazgo inesperado de este estudio fue la alta tasa de baciloscopías positivas en los pacientes pediátricos. Una enseñanza descrita y aceptada en la literatura es que los pacientes pediátricos con TB tienen una enfermedad paucibacilar y por lo tanto no son contagiosos, sin embargo, este hallazgo reta esta noción ya que casi la mitad de las muestras de esputo con cultivo positivo también tenían frotis positivo.¹⁰³

La evidencia radiológica de TB pulmonar en pacientes pediátricos con MTB es aproximadamente de 70%. El hallazgo en el estudio realizado por Van der Weert, 2006 reportó una cifra significativamente mas elevado en niños incluso VIH (+), lo que resalta el valor de la radiografía de tórax como un auxiliar diagnostico para MTB en este grupo, aunque cabe mencionar que los cambios radiológicos también pueden ser por otras condiciones relacionadas a VIH, como ser la neumonía intersticial linfocítica y bronquiectasias.

Adicionalmente en vista de haber formación de cavidades y efusión pleural en la radiografía de tórax únicamente en los pacientes VIH positivos, estos hallazgos deben alertar al clínico de la posibilidad de una enfermedad subyacente como VIH en el contexto clínico de MTB.¹⁰⁴

En el estudio realizado por Cardich, 2006 aun cuando la mayoría de los niños tuvieron síntomas pulmonares sugestivos de TB pulmonar,

únicamente el 17% tuvo evidencia de TB y 10% se confirmó por cultivo, lo que concuerda con reportes de otros estudios. Interesantemente tres de los cinco casos de cultivos positivos fueron detectados por cultivo de heces, un método que no se utiliza con frecuencia. El cultivo en heces para TB es relativamente poco sensible y técnicamente desafiante pero ha sido utilizado con éxito en muchos países en vías de desarrollo y merece consideración porque el espécimen se obtiene fácilmente.¹⁰⁵

El estándar de oro para diagnóstico de TB, la confirmación bacteriológica no se obtuvo en la mayoría de los pacientes incluidos, esta es una limitación esperada y ya establecida en el abordaje diagnóstico de TB en pediatría.

Muchos de los abordajes diagnósticos no fueron evaluados en una población independiente o comparada a grupos control por lo que el cálculo de la sensibilidad y especificidad es conflictivo y falta evidencia estadística de la validez de la mayoría de estos abordajes diagnósticos.

Hay una necesidad urgente para el desarrollo de nuevos abordajes diagnósticos para TB infantil y los métodos diagnósticos actuales deben ser interpretados con cautela.

Dichos abordajes diagnósticos deben ser relevantes a países en vías de desarrollo con recursos limitados y poblaciones con alta carga de VIH/SIDA.

Deben de realizarse estudios en poblaciones que incluyan pacientes VIH (+) y desnutridos y utilizar grupos controles sanos para desarrollar abordajes simples y relevantes con demostrada sensibilidad y especificidad.

Se deben estandarizar ciertas características de los métodos diagnósticos de acuerdo al contexto clínico y su adaptación de acuerdo a las diferentes

condiciones donde se aplican. Esto facilitara el uso y la interpretación de los diferentes abordajes diagnósticos.

La ponderación de las características debe realizarse de acuerdo a un método científico estándar. Esto permitirá a los investigadores asignar determinados pesos a las características de acuerdo a sus respectivos contribuciones al diagnóstico. Este modelo de ponderación podría adaptarse a diferentes contextos con una alta carga de VIH y desnutrición. De esta manera, la ponderación podría también realizarse con respecto al contexto donde el abordaje diagnóstico es utilizado.

Lograr el actual estándar de oro diagnóstico de confirmación bacteriológica podría optimizarse mediante la obtención de muestras que generen mayores aislamientos en los cultivo, como inducción de esputo. Sin embargo se necesitan más estudios para evaluar dichos métodos.

Donde sea posible la confirmación bacteriológica debe ser vigilantemente buscada en todos los niños con sospecha de TB.

Nuevas técnicas diagnosticas especialmente relevantes a países con escasos recursos económicos son urgentemente necesarios para mejorar el diagnóstico de TB infantil.

Es imperativo que los abordajes diagnósticos existentes o recientemente desarrollados sean asesorados objetivamente. Estudios realizados con estos abordajes deben utilizar un estándar de oro diagnóstico independiente, así como una población de estudio controlado e independiente para minimizar el sesgo.¹⁰⁶

CONCLUSION

El numero de estudios y las diferencias en procedimientos y metodología no permiten documentar cual es el método diagnostico de mayor utilidad para el diagnostico de TB en pacientes pediátricos con VIH.

Se requieren de estudios multicentricos conducidos para asesorar la validez de los nuevos métodos diagnósticos en contextos con cargas variables de enfermedad por TB, VIH, desnutrición y niños menores.

Cuadro 6

BIBLIOGRAFIA

- 1 Kochi A. The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. *Tubercle* 1991; 72:1–6.
2. Nelson L., Wells C. Global epidemiology of childhood tuberculosis *Int J tuberc lung dis* 2004; 8(5):636–647.
3. Donald P R. Children and tuberculosis: out of control? *Current Opinion Pulm Med* 2002; 8: 178–182
- 4.. Chintu C, Mudenda V, Lucas S et al. Lung diseases at necropsy in African children dying from respiratory illnesses: a descriptive necropsy study. *Lancet* 2002; 360:985–90.
5. Palme IB, Gudetta B, Bruchfeld J, Muhe L, Giesecke J. Impact of human immunodeficiency virus 1 infection on clinical presentation, treatment outcome and survival in a cohort of Ethiopian children with tuberculosis. *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21:1053–61.
- 6.. Madhi SA, Petersen K, Madhi A, Khoosal M, Klugman KP. Increased disease burden and antibiotic resistance of bacteria causing severe community-acquired lower respiratory tract infections in human immunodeficiency virus type 1–infected children. *Clin Infect Dis* 2000; 31:170–6.
7. Zar HJ, Cotton MF, Strauss S, et al. Effect of isoniazid prophylaxis on mortality and incidence of tuberculosis in children with HIV: randomised controlled trial. *BMJ* 2007; 334:136.
8. Coovadia H M, Jeena P, Wilkinson D. Childhood human immunodeficiency virus and TB co-infections: reconciling conflicting data. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2: 844–851.
9. Mermin J, Lule J, Ekwaru JP, et al. Effect of co-trimoxazole prophylaxis on morbidity, mortality, CD4-cell count, and viral load in HIV infection in rural Uganda. *Lancet* 2004; 364:1428–34.
10. Palme IB, Gudetta B, Bruchfeld J, Muhe L, Giesecke J. Impact of human immunodeficiency virus-1 infection on clinical presentation, treatment outcome and survival in a cohort of Ethiopian children with tuberculosis. *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21 : 1053-61.
11. Merchant RH, Oswal JS, Bhagwat RV, Karkare J. Clinical profile of HIV infection. *Indian Pediatr* 2001; 38 : 239-46.
12. Dhurat R, Mangani M, Sharma M, Shah NK. Clinical spectrum of HIV infection. *Indian Pediatr* 2000; 37 : 831-6
13. Palme I B, Gudetta B, Bruchfeld J, et al. Impact of human immunodeficiency virus 1 infection on clinical presentation, treatment outcome and survival in a cohort of Ethiopian children with tuberculosis. *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21: 1053–1061.
14. Gutman L T, Moye J, Zimmer B, Tian C. Tuberculosis in human immunodeficiency virus-exposed or—infected United States children. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13: 963–968.

15. Adhikari M, Pillay T, Pillay D G. Tuberculosis in the newborn:an emerging disease. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16:1108–1112.
16. Kent J H. The epidemiology of multidrug resistant tuberculosis in the United States. *Med Clin N Am* 1993; 77: 1391–1409.
- 17 .Jeena P M, Pillay P, Pillay T, Coovadia H M. Impact of HIV-1 co-infection on presentation and hospital-related mortality in children with culture proven pulmonary tuberculosis in Durban, South Africa. *Int J Tuberc Lung Dis* 2002; 6: 672–678.
18. Chintu C. Bhat G, Luo C, et al. Seroprevalence of human immunodeficiency virus type 1 infection in Zambian children with tuberculosis. *Pediatr Infect Dis J* 1993; 12: 499–504.
19. Styblo K. The global aspects of tuberculosis and HIV infection. *Bull Int Union Tuberc Lung Dis* 1990; 65: 28–32
20. Schaaf H S, Cotton M F, de Villiers G S, Donald P R. Clinical insights into the interaction of childhood tuberculosis and HIV in the Western Cape. *S Afr J HIV Med* 2000; 7: 33–35.
21. Madhi SA, Huebner RE, Doedens L, Aduc T, Wesley D, Cooper PA. HIV-1 co-infection in children hospitalised with tuberculosis in South Africa. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4:448–54.
22. Hesselning AC, Westra AE, Werschull H, et al. Outcome of HIVinfected children with culture-confirmed tuberculosis. *Arch Dis Child* 2005; 90:1171–4.
23. Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS, Hesselning AC, Enarson DA, Beyers N. The spectrum of disease in children treated for tuberculosis in a highly endemic area. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10:732–8.
24. Graham SM. Non-tuberculosis opportunistic infections and other lung diseases in HIV-infected infants and children. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9:592–602.
25. Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS, et al. The natural history of childhood intra-thoracic tuberculosis: a critical review of literature from the prechemotherapy era. *Int J Tuberc L Dis* 2004; 8:392–402.
26. Elenga N, Kouakoussui KA, Bonard D, et al. Diagnosed tuberculosis during the follow-up of a cohort of human immunodeficiency virus infected children in Abidjan, Cote d'Ivoire. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24:1077–82.
27. Starke J R. Modern approach to the diagnosis and treatment of tuberculosis in children. *Pediatr Clin North Am* 1988; 35:441–464.
28. Eamranond P, Jaramillo E. Tuberculosis in children: reassessing the need for improved diagnosis in global control strategies. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001; 5:594–603.
29. Starke JR. Pediatric tuberculosis: time for a new approach. *Tuberculosis* 2003; 83:208–12.
30. World Health Organization (WHO). Guidelines for HIV surveillance among tuberculosis patients. WHO/HTM/TB 2004.339. Geneva:WHO, 2004.

31. World Health Organization (WHO). Guidance for national tuberculosis programmes on the management of tuberculosis in children. WHO/HTM/TB/2006.371 Geneva: WHO, 2006.
32. Marais BJ, Hesseling AC, Gie RP, Schaaf HS, Enarson DA, Beyers N. The bacteriologic yield in children with intrathoracic tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2006; 42:e69–71.
33. Chow F, Espiritu N, Gilman RH, et al. La cuerda dulce—a tolerability and acceptability study of a novel approach to specimen collection for diagnosis of paediatric pulmonary tuberculosis. *BMC Infect Dis* 2006; 6:67.
34. Verver S, Warren RM, Munch Z, et al. Proportion of tuberculosis transmission that takes place in households in a high-incidence area. *Lancet* 2004; 363:212–4.
35. Schaaf HS, Michaelis IA, Richardson M, et al. Adult-to-child transmission of tuberculosis: household or community contact. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7:426–31.
36. Du Toit G, Swingler G, Iloni K. Observer variation in detecting lymphadenopathy on chest radiography. *Int J Tuberc Lung Dis* 2002; 6: 814–7.
37. Graham SM, Coulter JBS, Gilks CF. Pulmonary disease in HIV-infected children. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001; 5:12–23.
38. Jeena PM, Coovadia HM, Thula SA, Blythe D, Buckels NJ, Chetty R. Persistent and chronic lung disease in HIV-1 infected and uninfected children. *AIDS* 1998; 12:1185–93.
39. Marais BJ, Gie RP, Hesseling AC, et al. A refined symptom-based approach to diagnose pulmonary tuberculosis in children. *Pediatrics* 2006; 118:1350–9.
40. Pai M, Riley LW, Colford JM Jr. Interferon-g assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2004; 4:761–76.
41. Ewer K, Deeks J, Alvarez L, et al. Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak. *Lancet* 2003; 361:1168–73.
42. Dheda K, Lalvani A, Miller RF, et al. Performance of a T-cell-based diagnostic test for tuberculosis infection in HIV-infected individuals is independent of CD4 cell count. *AIDS* 2005; 19:2038–41.
43. Lodha R, Kabra SK. Newer diagnostic modalities for tuberculosis. *Indian J Pediatr*. 2004 Mar;71(3):221-7
44. Almeida L M, Barbieri M A, Da Paixo A C, Cuevas L E. Use of purified protein derivative to assess the risk of infection in children in close contact with adults with tuberculosis in a population with high bacille Calmette Guérin coverage. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 1061–1065.
45. Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS, et al. The clinical epidemiology of childhood pulmonary tuberculosis: a critical review of literature from the pre-chemotherapy era. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004; 8:278–85.

46. Farhat M, Greenaway C, Pai M, Menzies D. False-positive tuberculin skin tests: what is the absolute effect of BCG and non-tuberculous mycobacteria? *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10:1192–204.
47. Jeena PM. The interaction of HIV and tuberculosis in childhood. *South African Medical Journal*. October 2007, Vol. 97, No. 10
48. Lalvani A. and Millington, K..T cell-based diagnosis of childhood tuberculosis infection. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2007, 20:264–271
49. American Academy of Paediatrics. Pickering L, editor. *Red Book: report of the Committee on Infectious Diseases*. 25th ed. Elk Grove Village: American Academy of Pediatrics, 2000.
50. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000; 356: 1099–104
51. Barnes PF. Diagnosing latent tuberculosis infection: turning glitter to gold. *Am J Respir Cnt Care Med* 2004; 170: 5–6.
52. Lein AD, Von Reyn CF. In vitro cellular and cytokine responses to mycobacterial antigens: application to diagnosis of tuberculosis infection and assessment of response to mycobacterial vaccines. *Am J Med Sci* 1997; 313: 364–71.
53. Brock I, Munk M, Kok A, Performance of whole blood IFN gamma test for tuberculosis diagnosis based on PPD or the specific antigens ESAT-6 and CFP-10. *Int J tubercul Lung Dis* 2001;5:462-467
54. Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, et al. Guidelines for using the Quantiferon TB Gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United States. *MMWR Recomm Rep* 2005; 54:49–55.
55. Kiwanuka J, Graham S M, Coulter J B S, et al. Diagnosis of pulmonary tuberculosis in children in an HIV-endemic area, Malawi. *Ann Trop Paediatr* 2001; 21: 5–14.
56. Marais BJ, Obihara CC, Gie RP, et al. The prevalence of symptoms associated with pulmonary tuberculosis in randomly selected children from a high-burden community. *Arch Dis Child* 2005; 90:1166–70
57. Khan E, Starke J. Diagnosis of tuberculosis in children: increased need for better methods. *Emerg Infect Dis* 1995; 1: 115–23.
58. Morales J, Omelas M, et al. Infección por *Mycobacterium Tuberculosis* en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Bol Méd Hosp Infant Méx* 2004; Vol. 61(1):87-98
59. Lipsky BA, Bates J, Tenover FC, Plorde JJ. Factors affecting the clinical value of microscopy for acid-fast bacilli. *Rev Infect Dis* 1984;6:214-22
60. Starke J, Taylor-Watts K. Tuberculosis in the pediatric population of Houston, Texas. *Paediatrics* 1989; 84: 28–35.

61. Shingadia D. and Novelli V. Diagnosis and treatment of tuberculosis in children *Lancet Infect Dis* 2003; **3**: 624–32.
- 62 Vargas D., Garcia L, et al. Diagnosis of sputum-scarce HIV-associated pulmonary tuberculosis in Lima. *Lancet* 2005; 365: 150–52
63. Ba F, Rieder H. A comparison of fluorescence microscopy with the Ziehl-Neelsen technique in the examination of sputum for acid-fast bacilli. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999; **3**: 1101–05.
64. Jenkins PA, Casal M, David H et al. Diagnostic and public health mycobacteriology. London: Bureau of Hygiene and Tropical Diseases, 1991.
65. Roberts GD, Koneman EW, Kim YK. Mycobacterium. En: Manual of Clinical Microbiology, Balows A, ed. Washington DC: American Society of Microbiology, 1991; 304-339.
66. Wayne LG, Sramek HA. Agents of newly recognized or infrequently encountered mycobacterial diseases. *Clin Microbiol Rev* 5: 1-25.
67. Fúnez S, Varela C. Métodos diagnósticos em tuberculosis: lo convencional y lo nuevo. *Revista medica hondureña*, 2006; 74: 93-101
68. Casal M. Sistema radiométrico semiautomático (BACTEC 460 TB) para microbiología clínica de tuberculosis y micobacteriosis. *Enf Inf Microbiol Clin* 1987; **5**: 46-51.
69. Casal M. Microbiología clínica de las enfermedades por micobacterias. Córdoba: Edit. Universidad de Córdoba, 1991.
70. Luquin M, Ausina V, López F et al. Evaluation of practical chromatographic procedures for identification of clinical isolates of mycobacteria. *J Clin Microbiol* 1991; **29**: 120-130.
71. Peterson EM, Lu R, Floyd C, Nakasone A, Friedly G, De la Maza L. Direct identification of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* from amplified primary cultures in BACTEC media using DNA probes. *J Clin Microbiol* 1989; **27**: 1.543-1.547.
72. Goto M, Shmichi O, Okuzumi K, Kimura S, Shimada K. Evaluation of acridinium-ester-labeled DNA probes for identification of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium intracellulare* complex in culture. *J Clin Microbiol* 1991; **29**: 2.473-2.476.
73. Noordhock A, Kolk A, Bjune G. Sensitivity and specificity of polymerase chain reaction for detection of *Mycobacterium tuberculosis*: a blind comparison study among seven laboratories. *J Clin Microbiol* 1994; **32**: 277–84.
74. Watterson S, Drobniewski F. Modern laboratory diagnosis of mycobacterial infections. *J Clin Pathol* 2000; **53**: 727–32.

75. Fauville-Dufaux M, Waelbroeck A, Mol P, Vanfleteren B, Levy J, Debusschere P, Farber C. Contribution of the polymerase chain reaction to the diagnosis of tuberculous infection in children. *Eur J Paediatr* 1996; 155: 106–11.
76. Pierre C, Oliver C, Lecossier D, Boussougant Y, Yemi P, Hance AJ. Diagnosis of primary tuberculosis in children by amplification and detection of mycobacterial DNA. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:420-4.
77. Starke JR, Ong LT, Eisenach KD, et al. Detection of *M. tuberculosis* in gastric aspirate samples from children using polymerase chain reaction. *Am Rev Respir Dis* 1993;147
78. Delacourt C, Poveda J-D, Churean C, et al. Use of polymerase chain reaction for improved diagnosis of tuberculosis in children. *J Pediatr* 1995;126:703-9.
79. Smith K, Starke J, Eisenach K, Ong L, Denby M. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens from children using a polymerase chain reaction. *Paediatrics* 1996; 97: 155-60.
80. Margarita Bolaños et al, *Anales de pediatria*. Vol. 1, No. 4 — October-December 1995
81. Gomez-Pastrana D, Torronteras R, Caro P, et al. Diagnosis of tuberculosis in children using a polymerase chain reaction. *Paediatr Pulmonol* 1999;28: 344–51.
82. Mishra O, R Kumar, Z Ali, et al. Evaluation of polymerase chain reaction and adenosine deaminase assay for the diagnosis tuberculoseffusions in children *Arch. Dis. Child.* 2006;91:985-989
83. Kolk, A. H. J., G. T. Noordhoek, O. De Leeuw, S. Kuijper, and J. D. A. Van Embden. 1994. *Mycobacterium smegmatis* strain for detection of *Mycobacterium tuberculosis* by PCR used as an internal control for inhibition of amplification and for quantification of bacteria. *J. Clin. Microbiol.* 32:1354– 1356.
84. Kok L., Jansen H. Multiplex PCR Assay for Immediate Identification of the Infecting Species in Patients with Mycobacterial Disease. *Journal of clinical microbiology.* June 1997, p. 1492–1498 Vol. 35, No. 6
85. Narayanans S., Parandaman V., Narayanan PR, et al. Evaluation of PCR using TRC (4) and IS6110 iniciadores in detection of tuberculosis meningitis. *Journal of microbiology* 2001;39:2006-2008.
86. Fauville-dufaux M, Waelbroeck A, De Mol, et al. Contribution of the polymerase chain reaction to the diagnosis of tuberculous infection in children. *Eur Journal of Pediatr* 1196:155; 106-111
87. Aubert-pivert EM, Chedeveigne FM, et al. Cytokine transcripts in pediatric tuberculosis: a study with bronchoalveolar cells. *Tuber Lung Dis* 2000; 80:249-258.
88. Chan S, Abadco DL, Steiner P. Role of flexible fiberoptic bronchoscopy in the diagnosis of childhood endobronchial tuberculosis. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13: 506–09.

89. Rosen EU. The diagnostic value of an enzyme-linked immunosorbent assay using adsorbed mycobacterial sonicates in children. *Tubercle* 1990;71:127-30.
90. Hussey G, Kibel M, Dempster W. The serodiagnosis of tuberculosis in children: an evaluation of an ELISA test using IgG antibodies to *M. tuberculosis*, strain H37RV. *Ann Trop Paediatr* 1991;11:113-8.
91. Delacourt C, Gobin J, Gaillard J-L, de Blic J, Veran M, Scheinmann P. Value of ELISA using antigen 60 for the diagnosis of tuberculosis in children. *Chest* 1993;104:393-8.
92. Van vooren P, Farber CM, Motte S, De Bruyn J, Legros F, Yernault JC. Assay of specific antibody response to mycobacterial antigen for the diagnosis of a pleural effusion in a patient with AIDS. *Tubercle* 1988; 69: 303- 5.
93. Barrera L, de Kantor I, Ritacco A, Lopez B, Benetucci J, Beltran M, et al. Humoral response to Mycobacterium tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. *Tuberc Lung Dis* 1992; 73: 187- 91.
94. Van der werf TS, Das PK, van Soolingen D, Yong S, Van der Mark TW, van der Akker R. Serodiagnosis of tuberculosis with A60 antigen enzyme linked immunosorbent assay: failure in HIV-infected individuals in Ghana. *Med Microbiol Immunol* 1992; 181: 71- 6.
- 95 Ramalingam B, Uma devi, K.R., Raja A. Isotype-specific Anti-38 and 27 kDa (mpt 51) Response in Pulmonary Tuberculosis with Human Immunodeficiency Virus Coinfection. *Scand J Infect Dis* 2003; 35: 234- 239
96. Brooks JB, Daneshvar MI, Fast DM, et al. Selective procedures for detecting femtomole quantities of tuberculoic acid in serum and cerebrospinal fluid by frequency-pulsed electron-capture gas-liquid chromatograph. *J Clin Microbiol* 1987;25:1201-6.
97. Brooks JB, Daneshvar MI, Harberger RL, et al. Rapid diagnosis of tuberculous meningitis by frequency pulsed electron-captive gas-liquid chromatography detection of carboxylic acids in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 1990; 28:989-97.
98. Mwinga A. Challenges and hope for the diagnosis of tuberculosis in infants and young children. *Lancet* 2005; 365:97-98
99. Hesseling A, Schaaf, Gie R., et al A critical review of diagnostic approaches used in the diagnosis of childhood tuberculosis. *Int J tuberc lung dis* 6(12):1038–1045. 2002.
100. Mahdi S, Facpaeds S, Gray G, et al. Correlation between CD4⁺ lymphocyte counts, concurrent antigen skin test and tuberculin skin test reactivity in human immunodeficiency virus type 1-infected and -uninfected children with tuberculosis. *Pediatric Infect Dis J*, 1999;18:800-5
101. Van Rheezen P. The use of the paediatric tuberculosis score chart in an HIV-endemic area. *Trop Med Int Health* 2002; 7:435–441
102. Liebeschuetz S, Bamber S, Ewer K, et al. Diagnosis of tuberculosis in South African children with a T-cell-based assay: a prospective cohort study. *Lancet* 2004; 364: 2196–203.

103. Zar HJ, Hanslo D, Apolles P, Swinger G, Hussey G. Induced sputum versus gastric lavage for microbiological confirmation of pulmonary tuberculosis in infants and young children: a prospective study. *Lancet* 2005; 365:130–4.

104. Van der Weert E, Hartgers N, Schaaf S, et al. Comparison of Diagnostic Criteria of Tuberculous Meningitis in Human Immunodeficiency Virus-Infected and Uninfected Children. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2006; 25: 65-9.

105. Ramirez M, Kawai V, Oberhelman R, et al. Clinical correlates of tuberculosis coinfection in HIV-infected children hospitalized in Peru. *Int J Infect Dis* 2006 Jul; 10 (4):278-81.

106. Fourie P B, Leitch A G, Becker P J, et al. Procedures for developing a simple scoring method based on unsophisticated criteria for screening children for tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2: 116-123

ARTICULOS EXCLUIDOS

107. Jibrin YB, Yusuph H, Garbati MA, Gashau W, Abja UM. Should absolute lymphocyte count be used as a surrogate marker for CD4+ count in patients with HIV/AIDS? *Afr J Med Sci.* 2006 Mar; 35(1):9-13

108. Harries AD, Dye C. Tuberculosis. *Ann Trop Med Parasitol.* 2006 Jul-Sep; 100 (5-6):415-31.

109. Lopman BA, Barnabas RV, Boerma JT, et al. Creating and validating an algorithm to measure AIDS mortality in the adult population using verbal autopsy. 2006 Aug; 3(8):312

110. Setel PW, Whiting DR, Hemed Y, et al. Validity of verbal autopsy procedures for determining cause of death in Tanzania. *Trop Med Int Health.* 2006 May; 11(5):681-9

111. Pahwa R, Hedau S, Jain S, et al. Assessment of possible tuberculous lymphadenopathy by PCR compared to non-molecular methods. *J Med Microbiol.* 2005 Sep; 54(Pt 9):873-8.

112. Amirali W, Moshiri C, Ramaiya K. Assessment of clinical case-definition for HIV/AIDS in Tanzania. *East Afr Med J.* 2004 May; 81(5):226-9.

113. Viriyavejakul P, Rojanasunan P, Viriyavejakul A, et al. Opportunistic infections in the liver of HIV-infected patients in Thailand: a necropsy study. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2000 Dec; 31(4):663-7

114. Selwyn PA, Pumerantz AS, Durante A, et al. Clinical predictors of *Pneumocystis carinii* pneumonia, bacterial pneumonia and tuberculosis in HIV-infected patients. *AIDS.* 1998 May 28; 12(8):885-93

115. Jean SS, Reed GW, Verdier RI, et al. Clinical manifestations of human immunodeficiency virus infection in Haitian children. *Pediatr Infect Dis J.* 1997 Jun; 16(6):600-6

116. Graham SM, Daley HM, Ngwira B. Finger clubbing and HIV infection in Malawian children. *Lancet.* 1997. Jan 4; 349(9044):31

117. Soto-Ramírez LE, Hernández-Gómez L, Sifuentes-Osornio J, Barriga-Angulo G, Duarte de Lima D López-Portillo M, Ruiz-Palacios GM. Detection of specific antibodies in gingival crevicular transudate by enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Clin Microbiol*. 1992 Nov;30(11):2780-3.
118. Naclér A, Albino P, Da Silva AP, Andreasson PA, Andersson S, Biberfeld G. HIV-2 infection in hospitalized patients in Bissau, Guinea-Bissau. *AIDS*. 1991 Mar;5(3):301-4
119. Gazzolo L, Robert-Guroff M, Jennings A, et al. Int J Cancer. Type-I and type-III HTLV antibodies in hospitalized and out-patient Zairians. 1985 Sep 15;36(3):373-8.
120. Siddiqi K, Walley J, Khan MA, Shah K, Safdar N. Clinical guidelines to diagnose smear-Negative pulmonary tuberculosis in Pakistan a country with low HIV prevalence *Tropical Medicine and International Health*. 2006;11(3):323-31
121. Sadr E, Schaaf S, Hesselung A. Outcome of HIV infected children with culture confirmed tuberculosis *Arch. Dis. Child*. 2005;90;1171-1174
122. Mathur P, Samantaray J, Chauhan N. Evaluation of a rapid immunochromatographic test for diagnosis of kala-azar & post kala-azar dermal leishmaniasis at a tertiary care centre of north India. *Indian J Med Res* 122, December 2005, pp 485-490.
123. . López-Cortés LF, Nogales-Pérez MC, et al. Antibodies to antigen A60 in cerebrospinal fluid from patients with tuberculous meningitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1994 Jun;13(6):490-5.
124. Ratanasuwan W, Kreiss JK, Nolan CM, et al. Evaluation of the MycoDot test for the diagnosis of tuberculosis in HIV seropositive and seronegative patients. *Int J Tuberc Lung Dis*. 1997 Jun;1(3):259-64
125. Arias A, Mello F, Pavo'n A, et al. Clinical Evaluation of the Microscopic-Observation Drug-Susceptibility Assay for Detection of Tuberculosis. *Clinical Infectious Diseases* 2007; 44:674–80.
126. Kikuchi Y, Oka S, Kimura S, Mitamura K, Shimada K. Clinical application of the polymerase chain reaction for a rapid diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection *Intern Med*. 1992 Aug;31(8):1016-22.
127. Máttar S, Broquetas JM, Gea J, Aran X, el-Banna N, Sauleda J, Torres JM. Antigenic response against PPD and antigen 60 in tubercular patients: single antigen versus the combined test. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1992 May;10(5):272-6.
128. Ribera E, Martínez Vásquez JM, Ocaña I, Ruiz I, Jiménez JG, et al. Diagnostic value of ascites gamma interferon levels in tuberculous peritonitis. Comparison with adenosine deaminase activity. *Tubercle*. 1991 Sep;72(3):193-7.
129. Querol JM, Oltra C, Granda D, Alonso MC, et al. Usefulness of IgG and IgM detection against antigen 60 in the diagnosis of thoracic tuberculosis *An Med Interna*. 1993 Jun; 10(6):271-4.

130. Finch D, Beaty CD. Chest. The utility of a single sputum specimen in the diagnosis of tuberculosis. Comparison between HIV-infected and non-HIV-infected patients. *Chest*.1997;111 (5):1174-1179.
131. Akhila K, Mahadevan S,, Adhisivam B,. Qualitative Evaluation of Tuberculin Test Responses in Childhood Tuberculosis *Indian J Pediatr* 2007; 74 (7): 641-644.
132. Delacourt C, Gobin J, Gaillard J, et al. Value of ELISA using antigen 60 for the diagnosis of tuberculosis in children *Chest* 1993;104;393-398
133. Detjen A, keil T, Roll S, et al. Interferon-g Release Assays Improve the Diagnosis of Tuberculosis and Nontuberculous Mycobacterial Disease in Children in a Country with a Low Incidence of Tuberculosis *Clinical Infectious Diseases* 2007; 45:322–8
134. Kiwanuka J. Interpretation of tuberculin skin-test results in the diagnosis of tuberculosis in children. *African Health Sciences* 2005; 5(2) 152-156.
135. Verbon A, Weverling GJ, Kuiper S, et al. Evaluation of different tests for the serodiagnosis of tuberculosis And the use of likelihood ratios in serology. *Am Rev Respir Dis*.1993 Aug;148(2):378-84

Anexos

CUADRO 1. CARACTERISTICAS DE ESTUDIOS INCLUIDOS

AUTOR,AÑO DE PUBLICACIÓN Y PAÍS	TIPO DE ESTUDIO	OBJETIVO DE ESTUDIO	MUESTRA DEL ESTUDIO	RANGO DE EDAD
Mahdi 1999, Sudáfrica	Transversal	Determinar si el estudio concurrente de prueba cutanea con antígeno y o conteo de CD4 ayuda a la interpretacion de PPD en niños con TB	130	2-144 meses
Rheenen 2002,Sudáfrica	Estudio de cohorte prospectivo	Determinar la utilidad de sistema de puntuación diagnóstica para TB en una area endemica de VIH	147	0-144 meses
Liebeschuetz, 2004 Sudáfrica	Estudio de cohorte prospectivo	Determinar la utilidad de ELISPOT en dx de TB en pacientes VIH positivo	249	0-168 meses
Zar 2005,Sudáfrica	Estudio de cohorte prospectivo	Comparar especimenes repetidos de esputo inducido con lavado gastrico para aislamiento to de <i>M. Tuberculosis</i>	250	1-60 meses
Van der Weert,2006 Sudáfrica	Estudio caso-control	Determinar si los criterios clínicos, laboratoriales y radiológicos para dx de TB en niños VIH(-) son aplicables a niños VIH(+)	90	9-69 meses
Cardich 2006,Perú	Transversal	Determinar la prevalencia y correlación clínica de TB en niños VIH (+)	47	0-168 meses

CUADRO 2. CARACTERISTICAS DE ESTUDIOS INCLUIDOS

AUTOR,AÑO DE PUBLICACIÓN Y PAÍS	VIH POSITIVOS	VIH NEGATIVOS	DIAGNOSTICO TB: CRITERIO CLINICO	DIAGNOSTICO TB:CRITERIO EPIDEMIOLOGICO	DIAGNOSTICO TB:CRITERIO PPD
Mahdi 1999, Sudáfrica	52	78	Si	Si	Si
Rheenen 2002,Sudáfrica	44	103	Si	No	Si
Liebeschuetz, 2004 Sudáfrica	55	194	Si	No	Si
Zar 2005,Sudáfrica	95	155	Si	No	Si
Van der Weert,2006 Sudáfrica	34	56	Si	No	Si
Cardich 2006,Perú	47	0	Si	Si	Si

CUADRO 3. CARACTERISTICAS DE ESTUDIOS INCLUIDOS

AUTOR,AÑO DE PUBLICACIÓN Y PAÍS	DIAGNOSTICO DE TB:CRITERIO BACTERIOLOGICO	NUMERO DE CRITERIOS DE INCLUSION	TB CONFIRMADA VIH (+)	TB CONFIRMADA VIH (-)	TB CONFIRMADA ¿VIH?
Mahdi 1999, Sudáfrica	Si	2	16	27	
Rheenen 2002,Sudáfrica	Si	No determinado	23	52	
Liebeschuetz, 2004 Sudáfrica	Si	1	22	35	
Zar 2005,Sudáfrica	No	2			54 de esputo inducido 40 de lavado gástrico
Van der Weert,2006 Sudáfrica	Si	2	34	56	
Cardich 2006,Perú	Si	No aplicable	8		

Cuadro 4. CARACTERISTICAS DE ESTUDIOS INCLUIDOS

AUTOR , AÑO DE PUBLICACION Y PAIS	ABORDAJE DIAGNOSTICO	SENSIBILIDAD		ESPECIFICIDAD	
Mahdi,1999 Sudafrica	PPD , conteo de CD4 y prueba concurrente de antígeno en piel	PPD (VIH+) 25% PPD(VIH-) 83%			
Rheenen, 2002 Zambia	Sistema de puntuacion para diagnostico de TB	88%		25%	
Liebeschuetz, 2004 Sudafrica	Ensayo basado en celulas T (ELISPOT)	ELISPOT 73% PPD36% ELISPOT +PPD 91%		ELISPOT 14% PPD 29%	
Zar 2005 Sudafrica	Induccion de esputo y lavado gastrico	Espudo 87% Lavado gastrico 64%	Lavado	Espudo 100% Lavado gastrico 100%	
Van der Weert,2006 Sud africa	criterios clinicos, laboratoriales y radiologicos para diagnostico de MTB* en niños	RX** 84.8%, LCR*** 94%, TAC73%, Cultivo LCR 35% ,PPD 45%		RX 35%, LCR 3%, TAC16%, Cultivo LCR 79% ,PPD 38%	
Cardich 2006 Peru	criterios clinicos, laboratoriales , radiologicos, epidemiologico y PPD para diagnostico de TB	RX 88%, epidemiologia 50%, enf.resp 100%,perdida de peso 100% inmunosup 75%		RX 0%, epidemiologia 41%,Enf.resp 21%.perdida de peso 46% inmunosup 41%	

* MTB= Meningitis Tuberculosa; RX=Radiografía; LCR= Liquido Cefalorraquideo

CUADRO 5. CARACTERISTICAS DE ESTUDIOS INCLUIDOS

AUTOR , AÑO DE PUBLICACION Y PAIS	VALOR PREDICTIVO POSITIVO(VPP)	VALOR PREDICTIVO NEGATIVO (VPN)	RAZON DE PROBABILIDAD POSITIVA	RAZON DE PROBABILIDAD NEGATIVA	RAZON DE MOMIOS (OR)	RIESGO RELATIVO (RR)
Mahdi,1999 Sudafrica	CD4 normal VIH (+) PPD>5mm 50% VIH(-) PPD>10mm 80.3%	No aplicable	No aplicable	No aplicable	10	5.5
Rheenen, 2002 Zambia	55%	67%	1.1	.48		
Liebeschuetz, 2004 Sudafrica	ELISPOT 20% PPD 12%	ELISPOT 65% PPD 63%	ELISPOT 0.87 PPD 0.50	ELISPOT 1.9 PPD 2.2		
Zar 2005 Sudafrica	Espudo 100% Lavado gastrico 100%	Espudo 95% Lavado gastrico 89%		Espudo 0.13 Lavado gastrico .36		
Van der Weert,2006 Sud africa	RX 45%, LCR 37%, TAC 34% Cultivo LCR 50% ,PPD 29%	RX 78%, LCR 50%, TAC50%, Cultivo LCR 67% ,PPD 55%	RX 1.3 LCR 0.9 50%, TAC.87,Cultivo LCR 1.7,PPD .72	RX .42 LCR 1.6 TAC1.6,Cultivo LCR 0.81 ,PPD 1.42		
Cardich 2006 Peru	RX 15%, epidemiologia 14%,Enf.resp 20%,perdida de peso 27% inmunosup 20%	RX 0%, epidemiologia 80%,Enf.resp 100%,perdida de peso 100% inmunosup 88%	RX .88 .84 Enf.resp 1.3 perdida de peso 1.8 inmunosup 1.3	RX .12 epidemiologia 1.2 Enf.resp 0,perdida de peso 0 inmunosup .60		

CUADRO 6. CARACTERISTICAS DE ESTUDIOS INCLUIDOS

AUTOR, AÑO DE PUBLICACION Y PAIS	ESTANDAR DE REFERENCIA	LIMITACIONES DEL ESTUDIO	ANALISIS ESTADISTICO	CONCLUSIONES
Mahdi, 1999 Sudáfrica	Evidencia microbiológico y/o histológica de TB	La falta de un sistema acertado para dx de TB en niños VIH(+) puede haber condicionado un subregistro de los casos de TB en este grupo. PPD fue utilizado como criterio dx de TB	Epi Info version 6.04, OR, IC (95%), y Prueba de Fisher, t-student, $P < 0.05$	PPD es de valor limitado en el Dx de TB en niños con VIH (+). Cuento de CD4 ni no ofrecen mejoría en la interpretación de PPD
Rheenen, 2002 Zambia	Algoritmo dx que incluye: baciloscopia, cultivo, PCR, PPD, Rx de torax, e histología	El proceso de selección de pacientes sesgo la especificidad del estudio: se incluyeron niños con tos crónica y desnutrición	Epi Info 2000, t test, ANOVA y valor $P < 0.05$	El sistema de puntuación diagnóstica para TB no debe utilizarse como instrumento diagnóstico en países con alta prevalencia de VIH.
Liebeschuetz, 2004 Sudáfrica	Dx microbiológico de Tb por cultivo y/o baciloscopia	La pequeña muestra de pacientes TB negativos impide a hacer un estimado confiable de especificidad tanto de PPD como ELISPOT	Epi Info version 6, STATA y Prueba de Fisher	La sensibilidad de ELISPOT es superior que PPD para dx de TB en niños
Zar 2005 Sudáfrica	Confirmación Dx con PCR	No se especifica resultados entre VIH(+) y VIH(-) aunque no fue el objetivo principal de estudio es una conclusión final	Statsoft version 6.1, analisis de intervalo de confianza(IC) version 1.0, test x no corregida	Inducción de esputo es preferible al aspirado gástrico para dx de TB pulmonar tanto en VIH (+) como VIH (-)
Van der Weert, 2006 Sudáfrica	criterios clínicos, laboratoriales y radiológicos para dx de MTB en VIH(-)	Por ser un estudio retrospectivo la evolución clínica únicamente pudo ser asesorada en base a la condición clínica al completar el tratamiento antituberculoso	ANTHRO, The Mantel-Haenszel odds ratio (OR) 95% (IC) OR	El criterio dx clínico para MTB en niños VIH(-) es aplicable a VIH (+). Hallazgos en TAC en VIH(+) pueden ser confusos y demorar el dx.
Cardich 2006 Perú	Confirmación dx de TB por cultivo y PCR	La falta de un método dx óptimo para detectar TB en niños VIH (+) pudo condicionado un subregistro de los casos de TB en este grupo	Test de Fisher, t-student, OR mediante Log Xact version 5.0, Mann-Whitney U test	La pérdida de peso puede ser utilizado para identificar a los px de alto riesgo que requieren mayor evaluación para TB. Cambios radiológicos son comunes tanto en TB neg como positivo.