



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Medicina
División de Estudios de Posgrado e Investigación
Hospital General de México

UTILIDAD DE LOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EN TUBERCULOSIS GANGLIONAR

Asesor de Tesis
Dr. Raúl Cicero Sabido

Tesis
Para obtener el grado de
Maestría en Ciencias Médicas
Presenta
Dr. Alejandro Hernández Solís

México, 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimiento

A mis padres, por el gran apoyo que me han brindado en todo momento para lograr mis metas, Rosendo y Azucena, a mi esposa Rocío y mis hijos Alejandro y Andrea.

ÍNDICE

1. Antecedentes.....	5
2. Justificación.....	9
3. Planteamiento del problema.....	10
4. Hipótesis.....	11
5. Objetivos.....	12
6. Descripción general del estudio.....	13
6.1 Universo de trabajo.....	13
6.2 Sitio de realización.....	13
6.3 Criterios de selección.....	13
6.4 Aspectos éticos.....	14
6.5 Tamaño de la muestra.....	14
7. Material y métodos.....	15
7.1 Reactividad a PPD.....	15
7.2 Biopsia de ganglio cervical.....	16
7.3 Cultivo del tejido obtenido por biopsia del ganglio linfático.....	16
7.4 Tinción de Ziehl-Neelsen.....	17
7.5 Amplificación del DNA por reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	17
7.6 Determinación de anticuerpos anti <i>M. Tuberculosis</i> en suero por ELISA.....	18

8. Resultados.....	19
9. Discusión	21
10. Conclusión.....	25
11. Referencias Bibliográficas.....	26
12. Anexo.....	I
Tabla 1. Localización de las cadenas ganglionares.....	I
Tabla 2. Cuadro clínico en pacientes con tuberculosis ganglionar.....	II
Tabla 3. Otras localizaciones que coincidieron con tuberculosis ganglionar.....	III
Tabla 4. Patología de pacientes no tuberculosos.....	IV
Tabla 5. Métodos diagnósticos en tuberculosis ganglionar.....	V
Tabla 6. Resultados de los diferentes métodos de diagnóstico.....	VI

UTILIDAD DE LOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EN TUBERCULOSIS GANGLIONAR

1. ANTECEDENTES

La tuberculosis (TB) es un problema de salud pública en el ámbito mundial. Estimaciones sugieren que una tercera parte de la población está latentemente infectada con *Mycobacterium tuberculosis*. Como consecuencia aparecen 12 millones de casos nuevos al año y se presentan 3 millones de defunciones [1, 2]. La tuberculosis ganglionar es una de las formas extrapulmonares más frecuentes de infección por *Mycobacterium tuberculosis*. La patogenia obedece a siembras linfohematógenas secundarias a una primo infección. La vía linfática es prácticamente la única responsable, a partir de una localización intratorácica, y constituye alrededor del 20% de todos los casos de tuberculosis en el mundo. De las formas extrapulmonares el 90% se localiza en la pleura y aparato genitourinario, en tanto que el 10% restante comprende las localizaciones osteoarticulares y del sistema nervioso central [3, 4].

La adenitis cervical (escrófula), es una enfermedad crónica que presenta remisiones y exacerbaciones periódicas en la que las cadenas ganglionares cervicales superficiales son las más afectadas, siguiendo en orden de importancia las localizaciones inguinal y axilar [4, 5]. La adenopatía es dura, dolorosa, adherida a planos profundos y tiende a fusionarse y formar una masa de varios centímetros de diámetro. La piel puede presentar un tinte rojizo con signos de inflamación que frecuentemente se fistuliza y da salida a material caseoso.

En la práctica clínica el diagnóstico se realiza a partir de la presencia de hallazgos histológicos en la biopsia excisional de ganglio cervical o en la biopsia por aspiración con aguja fina. En ambas se realiza tinción de Ziehl-Neelsen para demostrar la presencia de *M. Tuberculosis*. Dicho procedimiento no siempre es concluyente por lo que el tratamiento suele iniciarse de acuerdo con el cuadro clínico y la sospecha histológica [6].

El problema con el diagnóstico antes mencionado es que el hallazgo en la biopsia de ganglio cervical de inflamación granulomatosa no es patognomónico de *M. tuberculosis* [7] ya que puede encontrarse también en casos de sífilis, sarcoidosis, micosis profundas por *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatitidis* y *Coccidioides immitis*, actinomicosis, reacciones a cuerpo extraño, brucelosis, esquistosomiasis, fiebre por arañazo de gato y lepra, lo que demuestra que siempre es necesario identificar el agente etiológico específico para otorgar el tratamiento adecuado a cada entidad patológica [8, 9, 10].

El diagnóstico de la tuberculosis extrapulmonar encuentra inconvenientes debido a la pobre carga bacilar existente. Por ello se ha intentado implementar nuevos métodos de laboratorio buscando poder realizar un diagnóstico oportuno y certero. Dichos métodos incluyen nuevos cultivos, pruebas moleculares, cromatografía y ensayos inmunológicos.

Dentro de los procedimientos utilizados con más frecuencia en la práctica médica, se encuentra la búsqueda de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) en las biopsias quirúrgicas (riñón, pleura, hígado). Este método posee la ventaja de ser rápido y económico, sin embargo, su sensibilidad en lesiones extrapulmonares es relativamente baja.

Los cultivos son otra alternativa de diagnóstico que requiere una menor carga bacilar para encontrar desarrollo de la micobacteria. Se han utilizado cultivos en medios sólidos, preferentemente el Lowestein-Jensen, y nuevos cultivos en medios líquidos, como el tubo MGTI (indicador de crecimiento micobacteriano). Ambos han demostrado ser eficaces en tuberculosis pulmonar, pero aún no se refleja su importancia en las localizaciones extrapulmonares.

Dentro de las nuevas técnicas de diagnóstico se ha empleado la determinación de anticuerpos (Acs) dirigidos contra antígenos (Ags) específicos de las micobacterias con la técnica de ELISA. Este método cuenta con la ventaja de que no se requiere la presencia del bacilo. En tuberculosis pulmonar se ha obtenido una sensibilidad del 90% y una especificidad del 100%, lo que nos hace pensar que dicha técnica podría ser una buena herramienta de diagnóstico para la detección de tuberculosis extrapulmonar.

Los métodos de biología molecular son otra de las nuevas alternativas que se ha empleado con buenos resultados para el diagnóstico de enfermedades infectocontagiosas. Una de las más utilizadas en los laboratorios es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que permite la síntesis in vitro de un fragmento de DNA de forma tal que en cada ciclo del proceso se duplica el número de moléculas. Si se parte de una molécula de DNA, al término de 20 ciclos habrá cerca de un millón de copias de dicha molécula. Esta técnica es capaz de detectar un número menor de bacilos (1 a 10), independientemente de la viabilidad del bacilo, debido a que se detecta exclusivamente el material genético.

Se ha demostrado la utilidad de la técnica en muestras de expectoración o lavado bronquial. El resultado ha sido una sensibilidad del 97%, una especificidad que varía del 73.2% al 100%, un valor predictivo positivo del 82.7% y un valor predictivo negativo del 92.2%. Lo anterior nos hace pensar que dicho procedimiento podría tener resultados favorables en el diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar debido a la escasa carga bacilar antes mencionada.

En el inicio de este trabajo se realizó una evaluación en pacientes con sospecha de tuberculosis ganglionar. Se obtuvo un fragmento de tejido por biopsia excisional del ganglio afectado y se llevó a cabo, simultáneamente, una reacción de cadena de la polimerasa para detección de *Mycobacterium tuberculosis*, y cultivos sólidos como el Lowenstein Jensen, líquidos como el MGIT y determinación de anticuerpos séricos de *Mycobacterium tuberculosis* por la técnica de ELISA para evaluar la eficacia diagnóstica de cada uno de los métodos mencionados para esta presentación de tuberculosis extrapulmonar.

Los casos fueron diagnosticados con base en antecedentes epidemiológicos, cuadro clínico, presencia de cadenas cervicales axilares o inguinales con diámetro mayor a 1 cm., radiografía de tórax con imágenes sugestivas de tuberculosis y hallazgos de inflamación granulomatosa crónica en biopsia excisional de ganglio cervical. Se consideró como confirmación de tuberculosis la buena respuesta clínica al tratamiento específico con drogas antituberculosas (H,R,Z), lo que conformó el estándar de oro.

La propuesta del presente estudio fue determinar la eficacia de los diferentes métodos de diagnóstico en tuberculosis ganglionar comparando los comúnmente utilizados con las nuevas herramientas de análisis y así determinar el más conveniente para ser utilizado en la práctica clínica.

2. JUSTIFICACIÓN

Por su difícil diagnóstico, la tuberculosis extrapulmonar representa un grave problema clínico. En la mayoría de los casos la evolución se lleva a cabo con menor cantidad de bacilos que en la tuberculosis pulmonar y el daño que provoca en tejidos especialmente vulnerables puede ser significativo. Esto conduce al desarrollo de formas crónicas que suelen pasar inadvertidas. El diagnóstico puede llegar en etapas tardías y en ocasiones sólo en el estudio *postmortem* debido a que clínicamente no se sospechó o no se obtuvo el diagnóstico etiológico adecuado. La introducción de nuevas pruebas prescriptivas que permitan la detección temprana de la tuberculosis y la implementación de un tratamiento oportuno probablemente tendrá una incidencia mayor en la lucha contra esta enfermedad.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1. ¿Tendrá mayor sensibilidad y especificidad la reacción de cadena de la polimerasa que los métodos actualmente utilizados como la tinción de Ziehl-Neelsen y el cultivo de Lowestein Jensen en el diagnóstico de la tuberculosis ganglionar?
2. ¿Tendrá mayor sensibilidad y especificidad la prueba de los Anticuerpos para *Mycobacterium tuberculosis* por ELISA, que los métodos actualmente utilizados como la tinción de Ziehl-Neelsen y el cultivo de Lowestein Jensen en el diagnóstico de la tuberculosis ganglionar?
3. ¿Tendrá mayor sensibilidad y especificidad el cultivo MGTI que los métodos actualmente utilizados como la tinción de Ziehl-Neelsen y el cultivo de Lowestein Jensen en el diagnóstico de la tuberculosis ganglionar?

4. HIPÓTESIS

1. Los nuevos métodos de diagnóstico como la reacción de cadena de la polimerasa tienen una mayor sensibilidad y especificidad que los métodos convencionales como la tinción de Ziehl-Neelsen y el cultivo Lowestein-Jensen en la detección de tuberculosis ganglionar.

2. Los nuevos métodos de diagnóstico como Acs para *Mycobacterium tuberculosis*, tienen una mayor sensibilidad y especificidad que los métodos convencionales como la tinción de Ziehl-Neelsen y el cultivo Lowestein-Jensen en la detección de tuberculosis ganglionar.

3. Los nuevos métodos de diagnóstico como el cultivo líquido MGTI tienen una mayor sensibilidad y especificidad que los métodos convencionales como la tinción de Ziehl-Neelsen y el cultivo Lowestein-Jensen en la detección de tuberculosis ganglionar.

5. OBJETIVOS

1. Conocer la sensibilidad y la especificidad de la reacción de cadena de la polimerasa, PCR para valorar su utilidad como método de diagnóstico en la tuberculosis ganglionar.
2. Conocer la sensibilidad y la especificidad de los Acs para *Mycobacterium tuberculosis* por ELISA para valorar su utilidad como método de diagnóstico en la tuberculosis ganglionar.
3. Conocer la sensibilidad y la especificidad del cultivo MGIT para valorar su utilidad como método de diagnóstico en la tuberculosis ganglionar.

6. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

6.1 Universo de trabajo:

El presente estudio es prospectivo, transversal y descriptivo. Fue realizado en pacientes con sospecha clínica de tuberculosis ganglionar, que acudieron a la consulta externa del servicio de Neumología o que se encontraban internados en el Hospital General de México.

6.2 Sitio de realización:

- Hospital General de México
 - a) Servicio de Neumología
 - b) Servicio de Patología

- Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicas
 - a) Departamento de Biología Molecular
 - b) Departamento de Investigaciones Inmunológicas

6.3 Criterios de selección

Inclusión

- Pacientes consecutivos que acudieron al Servicio de Neumología del Hospital General de México con la presencia de crecimientos ganglionares en cadenas cervicales, axilares, inguinales, fiebre, baja de peso y ataque al estado general.
- Firma del paciente de una carta de consentimiento informado.

No inclusión

-Pacientes que hubieran recibido tratamiento para tuberculosis en los últimos 6 meses.

-Pacientes que durante el estudio decidieran desertar del mismo.

-Pacientes portadores del virus de inmunodeficiencia humana

-Pacientes cuyas muestras debieran desecharse por contaminación

6. 4 Aspectos éticos

Los pacientes que cumplieron los criterios de selección fueron sometidos a un estudio con riesgo mínimo, biopsia de ganglio, indispensable para establecer el diagnóstico definitivo. Tomando como base el artículo 100 de la *Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos*, se realizó una carta de consentimiento informado para los pacientes y se obtuvo la autorización de los comités de investigación de las unidades donde se realizó el estudio.

6.5 Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra se calculó de acuerdo a las tablas que incluye coeficiente de variación y la proporción estimada del Dr. García Romero, con una alfa de .05 y un valor beta de .20. Se obtuvo un tamaño muestra mínima de 18 pacientes. Se estableció con base en el Teorema de Límite Central, el cual establece que es suficiente que las variables que se suman sean independientes, idénticamente distribuidas, con valor esperado y varianza finitas.

La aproximación entre las dos distribuciones es en general mayor en el centro de las mismas que en sus extremos o colas. Dicho teorema señala también que si la distribución de la población original es normal, las medias de muestras de cualquier tamaño tendrán una distribución normal.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

A los pacientes que ingresaron en el Hospital General de México con sospecha de tuberculosis ganglionar, se les hicieron los siguientes estudios: historia clínica completa, PPD, radiografía de tórax, exámenes de laboratorio (biometría hemática completa, perfil hepático, química sanguínea, tiempos de coagulación) y búsqueda de anticuerpos para el virus de inmunodeficiencia humana por la técnica de ELISA.

Se realizaron las pruebas siguientes haciendo una comparación independiente y a ciegas con nuestro estándar de oro (histología y respuesta clínica al tratamiento con drogas antituberculosas). A cada paciente se le hizo una biopsia de ganglio linfático; en cada fragmento se efectuó tinción de Ziehl-Neelsen, cultivo de Lowestein Jensen, cultivo MGIT y la reacción de cadena de la polimerasa.

Fueron extraídos 5 ml de sangre periférica de cada paciente para obtener el suero para la determinación de Anticuerpos para *Mycobacterium tuberculosis* con la técnica de ELISA [21].

7. 1 Reactividad a PPD

Se practicó la prueba tuberculínica basada en la hipersensibilidad tardía que se produce por la infección micobacteriana, específica en personas que han estado en contacto con micobacterias o han sido vacunadas con BCG. La reacción se hace evidente de cuatro a ocho semanas después de la infección micobacteriana.

Se empleó el derivado proteico purificado RT 23 adicionado con Twen 80, elaborado por el Instituto Serológico de Copenhague Dinamarca y diluido por el Instituto Nacional de Higiene de la Secretaría de Salud. Se aplicó vía intradérmica en el dorso del antebrazo izquierdo, en la unión del tercio superior con el tercio medio, con una dosis de 5 UT. Fue considerado reactor el que presentó 10 mm o más, después de 48 horas [23].

7. 2 Biopsia de ganglio cervical

La biopsia de ganglio fue dividida en tres porciones. En el primer fragmento se realizó un estudio histopatológico, el segundo se inoculó en medios de cultivo y el último fue utilizado para análisis de biología molecular.

El fragmento para estudio histopatológico fue depositado en un frasco con formol al 10% y fijado en un bloque de parafina, seccionado con un microtomo y teñido con hematoxilina y eosina para su observación con microscopia de luz. Los hallazgos histológicos que fueron reportados como compatibles para tuberculosis fueron granulomas de 1 a 2 mm. con células inflamatorias, principalmente macrófagos, rodeados por un anillo de linfocitos, así como la presencia de células gigantes de Langhans, con diámetro de 40 a 50 μm . y necrosis caseosa.

7.3 Cultivo del tejido obtenido por biopsia de ganglio linfático

Con el tejido obtenido de la resección quirúrgica se preparó una suspensión homogénea, descontaminada por métodos convencionales a base de una solución de hidróxido de sodio al 4%. Se centrifugó a 4,500 x g por 10 minutos. Posteriormente la mezcla fue colocada en 1 ml de agua destilada y 0.2 ml fueron inoculados al medio de cultivo sólido Lowenstein-Jensen, incubado a 37°C durante ocho semanas. Se observó cada semana y el resultado fue positivo cuando se encontraban de 20 a 100 colonias en el medio. Se inocularon 0.2 ml en el tubo MGIT indicador de crecimiento bacteriano (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) con 4 ml. de base de caldo Middlebrook 7H9. Se llevó a cabo la incubación y se examinó diariamente con luz ultravioleta de onda larga, a partir del segundo día. El resultado fue positivo al tornarse fluorescente el medio. En el momento de detectarse positividad en el tubo, estaban presentes aproximadamente 10^4 – 10^7 UFC/ml de micobacterias.

7.4 Tinción de Ziehl-Neelsen

La técnica se hizo en tres etapas: coloración, decoloración y coloración de contraste. El resultado fue negativo cuando no se encontraron bacilos en 100 campos observados y positivo cuando al menos se encontró un bacilo por campo en 100 observados.

7.5 Amplificación del DNA por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Este método permite encontrar y multiplicar secuencias de ácidos nucleicos en forma rápida y sencilla. Se basa en la disponibilidad de oligonucleótidos iniciadores (primers) con secuencias conocidas y específicas de *M. tuberculosis*. Se debe contar con un sistema que incluye el problema, los iniciadores, los cuatro nucleótidos precursores del DNA y una DNA polimerasa resistente al calor (se emplea la obtenida del microorganismo termofílico *Thermus aquaticus*). Al calentar la mezcla, el DNA se abre, los iniciadores se unen por complementariedad, se baja la temperatura y por actividad de la polimerasa, se duplica el segmento correspondiente. Se vuelve a aumentar la temperatura y así el ciclo se repite alrededor de 30 veces, al cabo de los cuales se contará con varios millones de copias del DNA. El producto de la amplificación se analiza por electroforesis en un gel de agarosa donde se debe observar una banda característica. Con este procedimiento es teóricamente posible amplificar una molécula específica de DNA entre miles de moléculas parecidas.

El procedimiento In-house PCR consistió en homogenizar la muestra en una solución estéril a base de 10 mM tris-HCL, 1 mM EDTA con un pH 8.0. Se realiza la extracción de DNA del tejido por un Kit de PCR, usando la secuencia 1S6110, con los primers TBI1 (5'-CACGCTAATTACCCCGTTCATCG-3') y TBI1 (5'-CAGCCGCCGCGAGCTGCGCGAT-3'). La reacción se realizó con un volumen final de 50 ul, que consistía en 0.067M Tris-HCL pH de 8.8, 0.016 de sulfato de amonio, 0.01M de 2-mercaptoetanol, 3mM MgCl₂, 2U de Taq polimerasa por 50 ul, 200 uM de dATP, dGTP, dTTP y dCTP, y 50 pmol de cada primer. La amplificación se hizo con un

termociclador (modelo 2400, Perking-Elmer, Norwalk, CT). Se realizó desnaturalización del DNA a 94°C durante 30 segundos y los primers a 67°C durante 2 minutos y se preparó una alícuota de 10 ul de la amplificación de DNA, que fue analizada por electroforesis en gel de agarosa al 2%. Los 175 pares de bases producto del DNA fueron observados con Gel-Star (FMC Bioproducts). Como control positivo se utilizó el DNA de la cepa de *M. tuberculosis* H37Rv.

7.6 Determinación de anticuerpos anti *M. tuberculosis* en suero por ELISA

A cada paciente se le extrajeron 10 ml de sangre periférica, obteniéndose con ello el suero. Posteriormente se realizó la prueba serológica la cual utilizó un extracto soluble de BCG (cepa Danesa TCC 1331 de 5-6 semanas de cultivo) que se absorbe a la superficie de pozos en la placa de microtitulación [21]. Se adicionaron diluciones del suero problema y si éstos contenían anticuerpos específicos se combinaban con dichos complejos. Subsecuentemente se identificaron con un conjugado anti-inmunoglobulinas humanas, marcado con peroxidasa. Simultáneamente se usaron sueros testigos para cubrir los intervalos de lectura alto reactivo, bajo reactivo (cercano al valor de corte) y suero negativo.

La lectura de ensayo se efectuó a 492 nm de longitud de onda, en donde se dicotomizó el resultado como positivo si era igual o mayor y negativo si era menor al valor de corte. Éste es de 0.216 DO492, esto es, la media más dos desviaciones estándar de los resultados en 100 muestras de suero de individuos aparentemente sanos.

Se realizó un control de calidad intraplaca que acepta las replicas igual o por abajo del 10% de variación y un control de calidad interplaca que acepta la corrida del día si tiene una variabilidad del 10% o menos.

8. RESULTADOS

Un total de 72 pacientes ingresados con sospecha de tuberculosis ganglionar fueron estudiados en el Hospital General de México (unidad médica de concentración de tercer nivel), en el lapso de mayo de 1998 a enero del 2001.

La biopsia fue compatible para infección por *M. tuberculosis* en 42/72 pacientes (24 hombres, 18 mujeres, edad promedio 45 años, rango 18-65 años). Las localizaciones que coincidieron con la tuberculosis ganglionar fueron dos casos de tuberculosis miliar en ambos pulmones, un paciente con tuberculosis ósea y cinco con la presencia de tuberculosis pulmonar broncogénica (tabla 3).

La localización de las cadenas cervicales afectadas que predominó en esta serie fue, 70% derecho, 15% izquierda, 10% bilaterales, 5% axilares, con un diámetro mayor a 1 cm (tabla 1). El cuadro clínico predominante fue fiebre, astenia, adinamia, baja de peso, tos y disnea (tabla 2). Ningún paciente presentó evidencia de cáncer de cabeza o cuello ni antecedentes de infección de vías respiratorias o regresión espontánea de las cadenas ganglionares antes de dos meses de observación.

La cutirreacción al PPD fue positiva en 21/42 pacientes y se obtuvo una sensibilidad de 50%. La tinción de Zielhl-Neelsen se reportó positiva en ocho pacientes (19%). Con una sensibilidad del 19.1%, el cultivo en medio sólido de Lowestein-Jeensen fue positivo en 23 pacientes (54%) y la sensibilidad fue de 54.8%. En el cultivo MGTI 23/42, la sensibilidad fue de 45.2%. La determinación de anticuerpos por ELISA para *Mycobacterium tuberculosis* se reportó positiva en 21 pacientes (50%), con sensibilidad del 50%. Los mejores resultados se obtuvieron con la realización de PCR, positivos en 34 biopsias de ganglio, con una sensibilidad del 81.1%. La concordancia del PCR fue de 83.3%, siendo alta en comparación con el cultivo de L-J, 73.6% [23]. El cultivo MGTI fue de 68.1%, la determinación de anticuerpos por ELISA, de 66.7%, mientras que la tinción de Zielhl-Neelsen reportó 52.8% y el PPD, 62.5% (tabla 6).

En todos los casos confirmados de tuberculosis, los pacientes fueron tratados con drogas antituberculosas y se obtuvieron buenos resultados terapéuticos. El seguimiento se realizó en la consulta externa durante 12 meses.

Se contó con un grupo control con presencia de crecimiento de cadenas ganglionares de etiología distinta a la tuberculosis, conformado por 30 pacientes (11 hombres, 19 mujeres, edad promedio 54 años, rango 14-75 años) que compartían características clínicas semejantes a los pacientes con tuberculosis. En el estudio histológico de biopsias de ganglio cervical se encontraron pacientes con hiperplasia linforeticular, adenocarcinoma broncogénico, carcinomas canaliculares de mama, linfoma no Hodking, adenocarcinoma de estómago y cáncer de colon (tabla 4).

La cutirreacción fue positiva en el 20% de los pacientes. En todas las biopsias, la tinción de Ziehl-Neelsen, el cultivo de L-J y el cultivo MGIT fueron negativos. La determinación de anticuerpos por *Mycobacterium tuberculosis* fue positiva en 3 casos y el PCR se encontró positivo en el 13% de los pacientes.

Cada uno de los pacientes fue tratado individualmente de acuerdo con su enfermedad de base.

9. DISCUSIÓN

El reciente incremento de nuevos casos de tuberculosis extrapulmonar y su difícil diagnóstico nos induce a valorar los métodos comúnmente utilizados, así como los que incluyen nueva tecnología. En los 42 casos que se confirmó el diagnóstico de tuberculosis se probó la eficacia de los métodos bacteriológicos, inmunológicos y de biología molecular, comparados de forma independiente y a ciegas con nuestro estándar de oro.

Lo encontrado en nuestra serie demuestra que la ubicación más frecuente de la tuberculosis ganglionar es cervical, unilateral, con predominio en el lado derecho, con un área de aproximadamente 2 cms. de diámetro. Los antecedentes de tuberculosis pulmonar u otro foco detectado sólo se encontraron en el 19% de los pacientes.

La cutirreacción se demostró en los pacientes con tuberculosis ganglionar sólo en el 50% de los casos. Seguramente esto se debió a otros factores propios de la población estudiada, tales como desnutrición o deficiencia inmunológica. En el grupo control se presentó positividad en el 23% de los casos, posiblemente por una primoinfección previa, cuestión que se ha documentado en la población de nuestro país.

La tinción ácido alcohol resistente ha sido por mucho tiempo el procedimiento diagnóstico más utilizado en la detección de tuberculosis ya que es un método sencillo, rápido, específico y económico. Su inconveniente es que se requieren de 5,000 a 10,000 bacilos por ml., para que exista un 50% de posibilidades de ser observados. En la tuberculosis extrapulmonar, la población bacilar es muy escasa y la tuberculosis ganglionar no es la excepción. Esto podría explicar por qué la sensibilidad observada está muy por abajo de la encontrada en muestras de expectoración. Otra posibilidad es que la técnica sólo utiliza 0.001 ml. de la muestra y efectúa un extendido de alrededor de 10,000 campos microscópicos de los cuales sólo se leen 100 a 200 campos, lo que necesariamente limita la posibilidad de ser positiva en casos de tuberculosis [12].

Observamos que la tinción de Zielh-Neelsen es un método de baja sensibilidad por lo que un resultado negativo no debe descartar el diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar.

El cultivo es un método que presentó mayor sensibilidad que el examen directo, seguramente debido a que basta que existan más de 10 bacilos/mil en la muestra para que se desarrolle el bacilo de *Mycobacterium tuberculosis*, con la ventaja de que sólo se utiliza 0.1 ml de la muestra que se procesará. En el presente estudio la sensibilidad fue menor que la encontrada en otro tipo de muestras como el lavado bronquial, posiblemente por la pobre carga bacilar de los tejidos estudiados, los errores en la conservación y el manejo o contaminación de la muestra. Una de las opciones que podríamos utilizar para aumentar la sensibilidad sería la incubación del inóculo en una atmósfera de 5 a 10% de anhídrido carbónico.

Los cultivos en medios líquidos como el MGTI no tuvieron ventajas en cuanto a la eficacia del diagnóstico. Su sensibilidad fue igual que la de los medios sólidos como el Lowestein-Jensen, pero fue superior en lo referente al tiempo de obtención de resultados, dos semanas, a diferencia de las ocho semanas de espera de los medios sólidos. Se realizó tipificación por métodos enzimáticos de las que resultó que las 23 cepas obtenidas pertenecían a *Mycobacterium tuberculosis*.

A pesar de estas limitaciones, los cultivos deben emplearse cada vez con mayor frecuencia para el diagnóstico de la tuberculosis. Además, son indispensables para las pruebas de resistencia *in vitro* y los estudios de tipificación que permiten diferenciar los bacilos tuberculosos de otras micobacterias existentes en el ambiente y que pueden encontrarse en la tuberculosis ganglionar. Se demostró que la utilidad de los cultivos como prueba individual es limitada, sin embargo, deben ser considerados como uno de los métodos en una ruta de diagnóstico [11].

El ingreso del bacilo tuberculoso al organismo humano desencadena importantes cambios inmunológicos; las micobacterias tienen numerosos antígenos que despiertan diferentes tipos de respuesta inmunológica, humoral y celular en el huésped. Aunque se estima que los anticuerpos no desempeñan un papel defensivo en la tuberculosis, su determinación es útil con fines de diagnóstico.

En el presente estudio se observó una sensibilidad del 50% por el método de detección de anticuerpos por ELISA, resultado inferior al reportado en la tuberculosis pulmonar (90%).

Aún faltan muchos estudios sobre las diferencias de inmunogenicidad y comportamiento antigénico de las moléculas micobacterianas en pacientes con distinto origen genético y en fases diferentes de la enfermedad que permitan el diseño de mejores mezclas de antígenos que efectivamente abarquen la diversidad de la respuesta inmune.

Hasta el momento debemos considerar que los resultados de estas pruebas son necesariamente presuntivos en algunos casos y es siempre recomendable que se interpreten en relación con los datos clínicos y epidemiológicos del sujeto en estudio.

Un resultado positivo, especialmente si es alto, es muy compatible con la presencia de tuberculosis activa, sin embargo, un resultado cercano al valor de corte o negativo no descarta la presencia de la enfermedad.

De los métodos que se utilizaron para el diagnóstico de la tuberculosis ganglionar, la técnica genética de amplificación del DNA fue la que tuvo la mayor sensibilidad (81.1%), superando a las pruebas bacteriológicas y serológicas. Los resultados falsos positivos pudieron deberse a contaminación de la muestra o a que el material clínico pudiera haber sido acompañado de moléculas inhibitoras de las enzimas empleadas. El empleo de sólo dos primers, dirigidos al complejo de *Mycobacterium tuberculosis* (IS6110, IS1081) podría explicar los casos falsos negativos al omitir la detección de micobacterias que no pertenecen a este complejo, como se ha descrito en las presentaciones extrapulmonares, donde pueden encontrarse micobacterias no tuberculosas [13, 14, 15].

Los resultados falsos negativos podrían evitarse en estudios posteriores agregando DNA uracil glucosilada (UDG), lo que aumentaría la especificidad y la sensibilidad.

El hecho de que en los casos controles existan algunas pruebas positivas a pesar de no presentar tuberculosis ganglionar, sugiere que es posible que estos pacientes hayan tenido una infección primaria previa sin manifestar la enfermedad en un medio en donde hay una alta prevalencia.

En éste estudio se observó que la reacción de cadena de la polimerasa es el método con mayor sensibilidad en tuberculosis ganglionar ya que se logró obtener el diagnóstico en la mayoría de los casos. Dicho procedimiento se mostró rápido y eficaz, sin embargo, requiere una infraestructura técnica importante fuera del alcance de instituciones con escasos recursos, en donde su utilidad sería notoria en pacientes en para quienes los métodos convencionales no son concluyentes [16].

10. CONCLUSIÓN

La confirmación del diagnóstico clínico de la tuberculosis es fundamental para iniciar el tratamiento del caso y, por consiguiente, limitar la extensión del daño y la diseminación de *Mycobacterium tuberculosis*. Ninguno de los métodos disponibles para este propósito es ciento por ciento eficiente. El desarrollo y empleo de nuevas generaciones de técnicas de laboratorio que permitan la detección precoz de la tuberculosis puede tener un impacto importante en la lucha contra esta enfermedad. En el presente estudio se encontró que la utilidad de la técnica de biología molecular, PCR, para el diagnóstico rápido y confiable de la tuberculosis ganglionar, tiene una alta sensibilidad, mayor que la de los métodos convencionales de laboratorio y es una excelente opción en casos de tuberculosis de difícil diagnóstico en la práctica clínica [17].

11. REFERENCIAS

1. Raviglione MC, Snider DEJ, Kochi A. *Global epidemiology of tuberculosis. Morbidity and mortality of a world-wide epidemic.* J Am Med Assoc 1995, 273: 220
2. Bloom BR, Murray CJL. *Tuberculosis: commentary on a reemergent killer.* Science 1992, 257: 1055- 1057
3. Hayase Y, Tobita K. *Cervical Tuberculous lymphadenitis in a frequent traveler to endemic areas of tuberculosis.* Intern Med 1997;36:211-3.
4. Emmanuelli JL. *Infective granulomatous diseases of head and neck.* Am J Otolaryngol 1993; 14:155-167.
5. Cleary KB, Batsakis JG. *Mycobacterial disease of the head neck: current perspective.* Ann Otol Rhinol Laryngol. 1995; 104: 830-833.
6. Alleva M, Guida RA. *Mycobacterial cervical lymphadenitis: a persistent diagnostic problem.* Laryngoscope .1988; 98: 855-857
7. Ibeke AO, al Shareef Z, Kindy S. *Diagnostic problems of tuberculous cervical adenitis (scrofula).* Am J Otolaryngol. 1997; 18: 202-205.
8. Fitzpatrick EL, Lejeune FE JR. *Mycobacterial cervical lymphadenitis: a review.* J La State Med Soc .1996; 148: 451-454.
9. Manolidis S, Frenkiel S, Yoskovitch A, Black M. *Mycobacterial infections of the head and neck.* Otolaryngol Head Neck Surg. 1993; 109: 427-433.

10. Thompson MM, et. al. *Peripheral tuberculous lymphadenopathy: a review of 167 cases.* Br J Surg. 1992; 79: 763-764.
11. Daniel TM, Debanne SM. *The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial disease by enzyme-linked immunosorbent assay.* Am Rev Respir Dis. 1987; 135:1115-1137.
12. Artenstein AW, Goldman D. *Isolated peripheral tuberculous lymphadenitis in adults curret clinical and diagnostic issues.* Clin Infect Dis. 1995;20; 876-82
13. Totsch M, Bocker W. *Diagnostic value of different PCR assays for the detection of mycobacterial DNA in granulomatous lymphadenopathy.* J Pathol 1996; 178: 221-226.
14. Campbell R, Querol JM. *Diagnosis of tuberculosis: Can the polymerase chain reaction replace acid-fast bacilli smear and culture?.* J Infect Dis. 1995;172: 903-905
15. Sanjay Shan M.D. *Rapid diagnosis of tuberculosis in various biopsy and body specimens by the amplicor Mycobacterium tuberculosis Polymerase Chain Reaction test.* Chest.1988;113:1190-94.
16. Querol JM, Andersen P. *The utility of polymerase chain reaction (PCR) in the diagnosis of pulmonary tuberculosis.* Chest.1995; 107:1631-1635.
17. Tenover F.C, Orme IM. *The resurgence of tuberculosis: Is your laboratory ready? J. Clin. Microbiol.* 1993; 31:767-770
18. Weller Z, et. al. *Diagnosis and treatment of cervical tuberculous lymphadenitis.* J Oral Maxillofac Surg 2000;58:477-481

19. Finfer M, Perchick A, Burstein DE. *Fine needle aspiration biopsy diagnosis of tuberculous lymphadenitis in patients with and without the acquired immune deficiency syndrome*. Acta Cytol 1991 May-Jun;35:325-328
20. Baek CH, Kim SI, Ko YH, Chu KC. *Polymerase chain reaction detection of Mycobacterium tuberculosis from fine-needle aspirate for the diagnosis of cervical tuberculous lymphadenitis*. Laryngoscope 2000 Jan;110:30-34
21. Escobar-Gutierrez A, et al. *Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with mycobacterial crude antigens for the seroepidemiological diagnosis of active tuberculosis*. Int J Lepr. 1996; 64:417-427
22. Muñoz-Barret JM, et.al. *Comparative tuberculin reactivity to two protein derivatives*. Rev Invest Clin 1996; 48:377-381.
23. Thornton GF. *Extrapulmonary tuberculosis, excluding the central nervous system*. In *Tuberculosis. Clinical management and new challenges*. Rossman MD, MacGregor RR. eds. New York. McGraw-Hill, Inc. 1995;176
24. Hopewell PhC, Bloom B.R. *Tuberculosis and other mycobacterial diseases*. In *Textbook of respiratory medicine*. 3th ed. Murray J.F., Nadel J.A., eds. Philadelphia. W.B. Saunders Co. 2000: 1078-1079.
25. Kennedy DH, Fallon RJ. *Tuberculous meningitis*. JAMA 1979; 241:264-268

12. Anexo

Tabla 1

Localización de las cadenas ganglionares en pacientes con tuberculosis ganglionar
70% derecho
15% izquierdo
10% bilateral
5% axilar

Tabla 2

Cuadro clínico predominante en pacientes con tuberculosis ganglionar
Fiebre 70%
Síntomas generales 65%
Baja de peso 40%
Tos 30%
Disnea 15%
Fístula ganglionar 10%

Tabla 3

Otras localizaciones que coincidieron con ganglionar	tuberculosis
Pulmonar	(5)
Miliar	(2)
Pleural	(1)
Ósea	(1)

Tabla 4

Patología de pacientes no tuberculosos. Controles						
	Fiebre	Baja de peso	Síntomas generales	Tos	Hemoptisis	Biopsia
N= 30 casos						
Hiperplasia linfática (14)	+	-	+	-	+	+
Ca. broncogénico (6)	-	+	+	+	+	+
Linfoma (4)	+	+	+	-	-	+
Ca. Mama (4)	-	+	+	-	-	+
Ca. Estómago (1)	-	+	+	-	-	+
Ca. Colon (1)	-	+	+	-	-	+

Tabla 5

Métodos diagnósticos en tuberculosis ganglionar. Resultados

	BAAR ZN		Cultivo L-J		Cultivo MGTI		ACS Mt. ELISA		PCR		PPD	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Casos n=42	8	34	23	19	23	19	21	21	34	8	21	21
Controles n=30	0	30	0	30	0	30	3	27	4	26	6	24

Tabla 6

Resultados de los diferentes métodos de diagnóstico						
	BAAR ZN	CULTIVO LJ	CULTIVO MGTI	ACS Ml. ELISA	PCR	PPD
Sensibilidad	19.1%	54.8%	45.2%	50.0%	81.1%	50.0%
Especificidad	100.0%	100.0%	100.0%	90.0%	86.7%	80.0%
VPP	100.0%	100.0%	100.0%	87.5%	89.5%	77.8%
VPN	46.9%	61.2%	56.6%	56.3%	76.5%	53.3%
Concordancia	52.8%	73.6%	68.1%	66.7%	83.3%	62.5%