

# Inmunidad humoral y celular específica, y niveles de adenosindesaminasa en niños con tuberculosis. Hospital de Niños “JM de Los Ríos”. Caracas, Venezuela

Diana López<sup>1</sup>, María Fernanda Gutiérrez<sup>2</sup>, Zaida Araujo<sup>3</sup>, Lisbeth Aurenty<sup>4</sup>, Jacobus De Waard<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Residente de Infectología, Hospital “J.M. de Los Ríos”, Caracas, Venezuela, <sup>2</sup>Adjunto del Servicio de Pediatría, Hospital Domingo Luciani. <sup>3</sup>Laboratorio de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Biomedicina, Universidad Central de Venezuela, <sup>4</sup>Adjunto Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital “JM de Los Ríos”, <sup>5</sup>Jefe del Laboratorio de Tuberculosis: Instituto de Biomedicina. UCV. Caracas-Venezuela

PREMIO SVI, XVI Jornadas Nacionales y XII Jornadas Nororientales de Infectología, noviembre 2007

## RESUMEN

La tuberculosis (TBC) constituye un problema de salud pública en Venezuela. Pese a los avances en la micobacteriología, el diagnóstico en niños continúa siendo un gran reto. **Objetivo:** Estudiar la inmunidad celular y humoral específicas y niveles de Adenosindesaminasa (ADA) en suero en niños con diagnóstico de tuberculosis y evaluar su utilidad como prueba diagnóstica. **Método:** Estudio prospectivo, diseño no experimental. Se evaluaron dos grupos (Pacientes-Controles), edades entre un mes-14 años, ambos sexos. **Pacientes:** niños hospitalizados en Hospital J.M. de Los Ríos (2004–2005), con tuberculosis activa; **Controles:** asintomáticos, radiografía de tórax normal, sin evidencia de contacto epidemiológico. Se midió reactividad de isotipos IgG, IgG1, IgG2, IgG3 e IgA en suero y la IgA secretora (IgAs) en saliva específicos contra el antígeno PPD de *M. tuberculosis*, niveles de producción de IL-12 e IL-5, (técnica ELISA); niveles séricos de ADA (Prueba de Giusti modificado). **Resultados:** Total 25 niños, 11 Pacientes y 14 Controles. Sensibilidad prueba tuberculina 45,5 %. Niveles de ADA sérica sin diferencia entre los grupos. Niveles de IgG específica e IgG2 fueron mayores en los pacientes ( $P < 0,002$ ). Sensibilidad y especificidad para IgG2 fue de 80 % y 100 %, respectivamente. Medición IL-12 reportó sensibilidad 50 %, especificidad 85,7 %, diferencia entre los grupos significativa ( $P < 0,05$ ). Niveles IL-5 mayores en los pacientes ( $P < 0,05$ ), sensibilidad 44.4%, especificidad 100%. Resto de las pruebas serológicas sin diferencias entre los grupos. **Conclusiones:** Las determinaciones inmunológicas y

enzimática mostraron en general elevada especificidad con una sensibilidad variable. La determinación de IgG2 antiPPD en suero fue la prueba más sensible y específica. Niveles de ADA en suero tienen utilidad limitada debido a su baja sensibilidad.

Palabras clave: Tuberculosis. Adenosindesaminasa. Inmunidad. Sensibilidad. Especificidad.

## SUMMARY

Tuberculosis (TBC) constitutes a problem of public health in Venezuela. In spite of the advances in the mycobacteriology, the diagnosis in children continues being a great challenge. **Objective:** To study the specific cellular and humoral immunity and levels of Adenosin deaminase (ADA) in serum of children with tuberculosis diagnosis and to evaluate its utility as diagnostic test. **Method:** It is a prospective study, with a nonexperimental design. Two groups were evaluated (Patients and Controls), with ages between a month-14 years, both sexes. **Patients:** children hospitalized in Hospital J.M. de los Ríos (2004-2005), with active tuberculosis; **Controls:** nonsymptomatic, normal x-ray of thorax, without evidence of epidemiologic contact. We measure reactivity of serum IgG isotopes (IgG1, IgG2, IgG3) and serum IgA, and levels of secretory IgA (IgAs) in saliva against PPD antigen of *M. tuberculosis*, levels of production of IL-12 and IL-5, (ELISA); serum levels of ADA (Giusti Modified Test). **Results:** Total 25 children, 11 patients and 14 controls. Tuberculin Test Sensitivity of 45.5 %. Serum levels of ADA without difference between the groups. Levels of specific IgG and IgG2 were greater in the patients ( $P < 0,002$ ). Sensitivity and specificity for IgG2 were of 80 % and 100 %, respectively. Measurement IL-12 reported sensitivity 50 %, specificity 85.7 %, been significant the difference between the groups ( $P < 0.05$ ). Greater levels IL-5 in the patients ( $P < 0.05$ ), sensitivity 44.4 %, specificity 100 %. Rest of the serologic tests without differences between the groups. **Conclusions:** The immunological

<sup>1</sup>Residente de Infectología, Hospital “J.M. de Los Ríos”, Caracas, Venezuela,

<sup>2</sup>Adjunto del Servicio de Pediatría, Hospital Domingo Luciani

<sup>3</sup>Laboratorio de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Biomedicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

<sup>4</sup>Adjunto Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital “J.M. de Los Ríos”.

and enzymatic determinations showed in general high specificity with a variable sensitivity. The determination of antiPPD IgG2 in serum was the most sensible and specific test. Levels of ADA in serum have a limited utility due to their low sensitivity.

Key words: Tuberculosis. Adenosin deaminase. Immunity. Sensitivity. Specificity.

## INTRODUCCIÓN

La prevalencia de tuberculosis (TBC) en Venezuela es moderada en relación con otros países latinoamericanos. Para el año 2001 la tasa estimada de incidencia de TBC alcanzó 25 por cada 100 000 habitantes (1-4).

El diagnóstico de tuberculosis en los niños es complejo, desde el punto de vista clínico, los síntomas son inespecíficos y aunado a esto los niños no son bacilíferos, lo cual dificulta la comprobación bacteriológica (5-7). Debido a la baja probabilidad de confirmación bacteriológica de TBC en el niño, se ha aceptado que el diagnóstico debe basarse en la tríada: a) Antecedente de contacto con enfermo bacilífero, b) Positividad de la reacción tuberculínica y c) Datos clínicos y radiológicos (6-9).

En los últimos años se han empleado diferentes técnicas para mejorar el diagnóstico de TBC entre las cuales tenemos la PCR y pruebas serológicas específicas contra el *M. tuberculosis*. En general estas pruebas presentan una elevada especificidad, entre 90 % a 100 % y una sensibilidad variable, entre 50 % a 70 %; estas se han empleado con buenos resultados como examen complementario en el diagnóstico de TBC en adultos, y en el caso de los niños son pocos los estudios, pero además con resultados controversiales (10-13). Recientemente en Venezuela, se está utilizando la determinación de la actividad de la adenosin deaminasa (ADA), enzima derivada del metabolismo de las purinas, que se encuentra elevada en los exudados provenientes de pleuresías, peritonitis y meningitis tuberculosas, casos estos, en los que precisamente la comprobación bacteriológica se hace más difícil (14).

Considerando la dificultad que tiene el diagnóstico de TBC en niños, y la necesidad de contar con nuevas pruebas que nos sirvan de ayuda al diagnóstico de esta patología en niños; en el presente trabajo nos planteamos comparar diferentes metodologías para el diagnóstico de TBC en niños con la sospecha clínica y epidemiológica de enfermedad tuberculosa.

## MÉTODOS

### Población y grupos

Se estudió una población total de 25 niños, la cual estuvo constituida por dos grupos. 1) Paciente: 11 niños con la sospecha clínica y epidemiológica de enfermedad tuberculosa ingresados en el Hospital "J.M. de Los Ríos" entre los años 2004 - 2005. 2) Controles: 14 niños sanos provenientes de Caracas y de otras ciudades del país conformaron el grupo control. Se registró la edad, sexo, procedencia, antecedentes personales de importancia, contactos epidemiológicos con enfermedades transmisibles (particularmente TBC), presencia de cicatriz de BCG, síntomas y signos contributorios al examen físico.

Se obtuvo autorización por parte de la comisión bioética del Hospital "J.M. de Los Ríos" para la recolección de las muestras. Los representantes de los niños incluidos en el protocolo manifestaron por escrito el consentimiento de que estos participaran en el estudio.

### Criterios de inclusión y exclusión de pacientes y controles

Pacientes con edades comprendidas entre un mes y 14 años, de ambos sexos, con diagnóstico basado en al menos tres de los siguientes criterios. 1. Clínico: a) Presencia de síndrome febril prolongado, b) Síndrome adenomegálico, c) Neumonías de evolución tórpida a pesar de recibir tratamiento antibiótico adecuado según grupo etario, d) Hepatoesplenomegalia, e) Pérdida de peso mayor al 10 % en el transcurso de 2 meses, f) Meningitis crónica. 2. Epidemiológico: a) Contacto intradomiciliario continuo con adulto que presente tuberculosis activa, b) Presencia de respuesta de hipersensibilidad retardada, a través de la reactividad a la prueba de la tuberculina o PPD mayor de 10 mM. 3. Radiológico: a) Adenopatía hilar o mediastinal, b) Hiperinsuflación o atelectasia, c) Consolidación alveolar, d) Densidad intersticial, e) Derrame pleural y/o cavitación. 4. Comprobación microbiológica de *M. tuberculosis*: a) Realización de BK, b) Cultivo, c) PCR para este germen. 5. Evidencia por anatomía patológica. 6. Respuesta clínica satisfactoria al instaurar tratamiento antituberculoso. Se incluyeron como controles a niños sanos asintomáticos, con radiografía de tórax normal y sin evidencia de contacto epidemiológico. Los criterios de exclusión consistieron en excluir del estudio los pacientes con diagnóstico de las siguientes enfermedades: Inmunodeficiencias congénitas, infección por virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y enfermedades neoplásicas.

### Métodos hematológicos

Se realizaron determinaciones de hematología completa, que incluyó: niveles de hemoglobina, hematocrito, conteo leucocitario y diferencial, y valores de plaquetas. Estas pruebas se llevaron a cabo en el laboratorio central del Hospital "J.M. de Los Ríos", a partir de las muestras de sangre tomadas.

### Método radiológico

Se realizó Rx de tórax anteroposterior y lateral a tanto los niños pacientes como a los niños controles. El estudio se llevó a cabo en el servicio de radiología del Hospital "J.M. de Los Ríos".

### Métodos microbiológicos

A las muestras de contenido gástrico, se les realizó tinción de Zielh-Nielsen (ZN) con observación microscópica directa y cultivo en Lowëstein-Jensen (LwJ) y Stonebrink (Stb) pH 6,0, con observación diaria durante al menos 8 semanas. Las pruebas se llevaron a cabo en el servicio de microbiología del Hospital "J.M. de Los Ríos".

### Método molecular y enzimático

Las determinaciones de reacción en cadena de la polimerasa para *M. tuberculosis* se realizaron a partir de muestras de contenido gástrico. Se utilizaron cebadores de oligonucleótidos para la secuencia de inserción IS6110. El estudio se realizó en el Laboratorio Central del Hospital "J.M. de Los Ríos". La determinación de ADA se realizó en suero de acuerdo al método de Giusti (14). El método se llevó a cabo en el laboratorio de Tuberculosis del Instituto de Biomedicina.

Las determinaciones para el inmunodiagnóstico en suero, se realizaron en el laboratorio de Inmunología de Enfermedades Infecciosas del Instituto de Biomedicina.

### Determinaciones de la respuesta humoral

Mediante la técnica de ELISA se determinaron los niveles de inmunoglobulinas específicas contra el antígeno PPD de *M. tuberculosis* de manera similar a como previamente hemos reportado (15). Los anticuerpos secundarios conjugado con peroxidasa para las subclases IgG1, IgG2 e IgG3 fueron Sheep Anti-human IgG1 AP006, Sheep Anti-human IgG2 AP007, Sheep Anti-human IgG3 AP008, The Binding Site®, UK, respectivamente.

### Determinaciones de la respuesta celular

La prueba de la tuberculina o PPD se realizó de acuerdo a las normas establecidas por el

Programa Nacional de Control de Tuberculosis (4).

El procedimiento para la determinación de citoquinas se realizó mediante la técnica de ELISA tipo sándwich, utilizando para ello kits de la casa comercial DuoSet® de R&D System. Brevemente, se siguieron las instrucciones indicadas en los insertos de los kits comerciales para las citoquina IL-12 e IL-5 (Human IL-12/IL-23 p40 DY1240 o Human IL-5 DY205, respectivamente). Para la obtención de la valoración de los niveles de citoquinas se utilizó una curva estándar, la cual incluyó las concentraciones de 4 000, 1 600, 640, 256, 100, 50 y 10 pg/mL.

### Método estadístico

Los valores de corte o cut off para positividad de las pruebas fueron establecidos a partir de la media más dos veces la desviación estándar. Las comparaciones se realizaron con la prueba t de Student para muestras no pareadas entre los grupos en estudio. Se calculó la sensibilidad y especificidad para cada método.

## RESULTADOS

El promedio de edad en el grupo de pacientes fue de  $5,2 \pm 3,6$  años y en el grupo control de  $6,6 \pm 2,4$  años. En cuanto a la distribución por sexo en el grupo de pacientes, 4 fueron del sexo masculino (36 %) y 7 de sexo femenino (64 %). En el grupo control 8 fueron del sexo masculino (43 %) y 6 femenino (57 %), (Tabla 1). En cuanto a la procedencia de los niños estudiados, un 40 % de los individuos procedían de Caracas, y el resto de los estados, Miranda, Delta Amacuro y Guárico.

Los síntomas referidos con mayor frecuencia en el grupo de pacientes fueron, fiebre en el 100 % de los casos, y en forma de síndrome febril prolongado en 72,7 % de estos. En segundo lugar acusaron tos en 81,8 % de los casos. Otros síntomas referidos fueron pérdida de peso (54,5 %), decaimiento (45,5 %) y masa en cuello (adenopatía) en un solo caso que representaría un 9 % del grupo de pacientes.

### Estudios hematológicos

Los niveles de hemoglobina (Hb) y hematocrito (Hto) fueron significativamente más bajos en el grupo de pacientes (Hb:  $9,1 \pm 1,6$  Hto:  $29,3 \pm 4,4$ ) en comparación con el grupo control (Hb:  $11,6 \pm 1,5$  y Hto:  $35,1 \pm 4,9$ ) ( $P < 0,0005$  y  $P < 0,01$  respectivamente). No se encontraron diferencias significativas al comparar los valores de glóbulos

blancos ( $8\ 725,0 \pm 2963,2$  y  $8\ 142,8 \pm 2\ 747,0$ , respectivamente) ni para el conteo plaquetario ( $384,8 \pm 118,9$  y  $367,7 \pm 84,6$ , respectivamente) (Tabla 1).

### Pruebas microbiológicas

En cuanto a las pruebas bacteriológicas realizadas, BK y cultivo para *M. tuberculosis* en muestra de contenido gástrico, no se encontraron pruebas positivas para ninguno de los pacientes

estudiados (Tabla 1).

### Contacto epidemiológico, prueba de la tuberculina y vacunación con BCG

Sólo se pudo corroborar el contacto epidemiológico en 38,5 % de los casos, siendo este en el 100 % de los casos, un familiar que convivía con el niño. La prueba de PPD mostró una sensibilidad de 45,5 %. La prueba no se

Tabla 1

Valores hematológicos, bacteriológicos y radiológicos de los niños pacientes y controles

Parámetro	Paciente	Control	P
Edad	5,2 ± 3,6	6,6 ± 2,4	NS
Masculinos (%)	64,0	43,0	NS
Femeninos (%)	36,0	57,0	NS
PPD+ (%)	45,5	NR	
Bacteria + (%)	0	0	
Bacteria+ y Cultivo+ (%)	0	0	
Rayos X patológico (%)	1 00	0	
Hb (g/dL)	9,14 ± 1,6	11,6 ± 1,5	< 0,0005
Hto (%)	29,34 ± 4,	35,14 ± 4,	< 0,01
GB (x 10 <sup>3</sup> )	8 725,0 ± 2963,2	8 142,8 ± 2 747,0	NS
Linfocitos (%)	50,3 ± 22,2	40,4 ± 10,1	NS
Neutrófilos (%)	4 8,5 ± 21,7	55,8 ± 10,8	NS
Plaquetas	384,8 ± 118,9	367,7 ± 84,6	NS

Valores expresados en media aritmética ± desviación estándar, P= valores calculados por la prueba de t de Student. Hb: Hemoglobina, Hto: Hematocrito, GB: Glóbulos blancos. NS: no significativo.

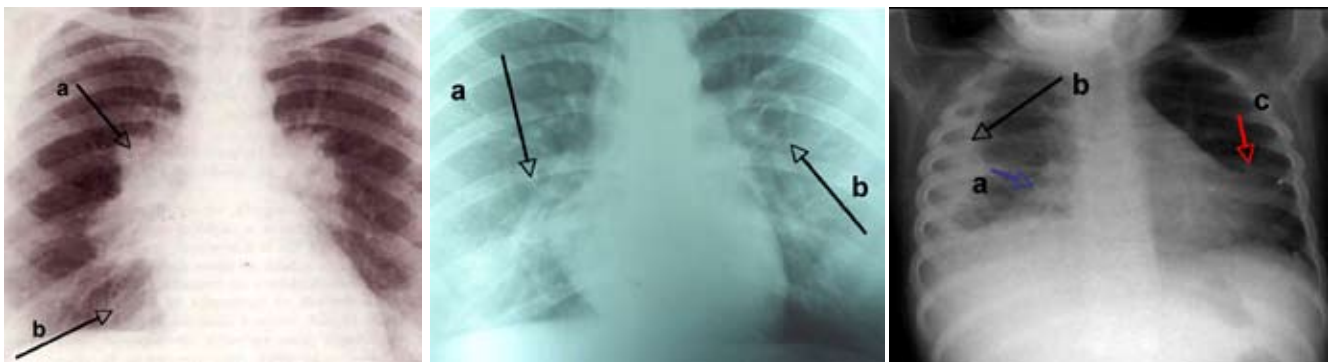


Figura 1. (1A) Radiología de paciente que presenta ensanchamiento mediastinal bilateral a predominio derecho secundario a adenopatías mediastinales, e imagen radiopaca que borra ambos senos cardiofrénicos con signo de la silueta positivo. (1B) Radiología de paciente que presenta un patrón alveolo intersticial bilateral con ensanchamiento mediastínico. (1C) Radiología de paciente donde se evidencia imagen radiopaca en hemitórax derecho que borra seno costodiafragmático y cardiofrénico derecho, con engrosamiento pleural mayor de 20 mm correspondiente a derrame pleural. Además se observa imagen radiopaca retráctil paracardíaca izquierda secundaria a atelectasia.

realizó a los niños controles, debido a que los representantes no estuvieron de acuerdo con la aplicación de la misma (Tabla 1). La cobertura de vacunación con BCG en la población estudiada fue de 81,8 %.

### Estudio radiológico

Los resultados del estudio radiológico se muestran en la Figura 1. Las radiografías de tórax fueron patológicas en el 100 % de los casos del grupo de pacientes, observándose: Ensanchamiento mediastinal bilateral a predominio derecho secundario a adenopatías mediastinales, e imagen radiopaca que borra ambos senos cardiofrénicos con signo de la silueta positivo (Figura 1A). Patrón alveolo intersticial bilateral con ensanchamiento mediastínico (Figura 1B). Se evidenció imagen radiopaca en hemitórax derecho que borra seno costodiafragmático y cardiofrénico derecho, con engrosamiento pleural mayor de 20 mm correspondiente a derrame pleural, además se observa imagen radiopaca retráctil paracardíaca izquierda secundaria a atelectasia (Figura 1C).

### Prueba molecular

Se realizó PCR en muestra de contenido gástrico en 8 de los 11 pacientes (72,7 %), 1 muestra resultó positiva, lo cual corresponde a un 12,5 % de sensibilidad. La especificidad de la prueba no se obtuvo, pues éticamente no se justifica tomar este tipo de muestras en niños sin sintomatología (Tabla 2).

Tabla 2

Comparación de sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas estudiadas

Marcador	Sensibilidad	Especificidad
PPD (%)	5,45	NR
IgG anti-PPD (%)	66,6	100
IgG1 anti-PPD (%)	0	85,7
IgG2 anti-PPD (%)	80,0	100
IgG3 anti-PPD (%)	50,0	100
IgA anti-PPD (%)	11,1	100
IL-12 pg/mL	50,0	85,7
IL-5 pg/mL	44,4	100
PCR (%)	12,5	NR
ADA (DO)	30	100

NR: No realizado

### Método enzimático

El punto de corte o cut off fue 63,7 para el método de ADA; no se encontró diferencias significativas al comparar las medias de los valores de las concentraciones séricas de ADA entre los grupos de pacientes ( $54,5 \pm 34,3$ ) y controles ( $31,6 \pm 16,0$ ), (Figura 2). De los 10 pacientes estudiados, sólo 2 fueron positivos, por lo que el método mostró una sensibilidad de 30 % y especificidad de 100 % (Tabla 2).

### Determinación de anticuerpos

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar las medias de los valores de las densidades ópticas (DO) obtenidas de las reactividades del isotipo IgG contra el antígeno PPD entre los grupos de pacientes ( $0,454 \pm 0,134$ ) y controles ( $0,238 \pm 0,036$ ),  $P < 0,002$  (Figura 3). El punto de corte o cut off fue de 0,310; 6 de los 9 pacientes presentaron reactividad del isotipo

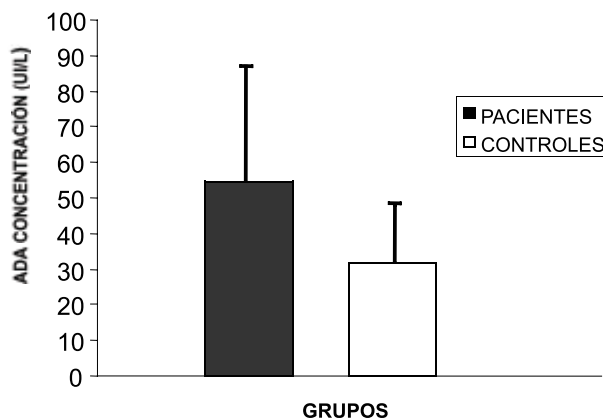


Figura 2. Media ± Desviación estándar de las concentraciones de Adenosin desaminasa (ADA). Grupo de pacientes (■) y Grupo de controles (□).

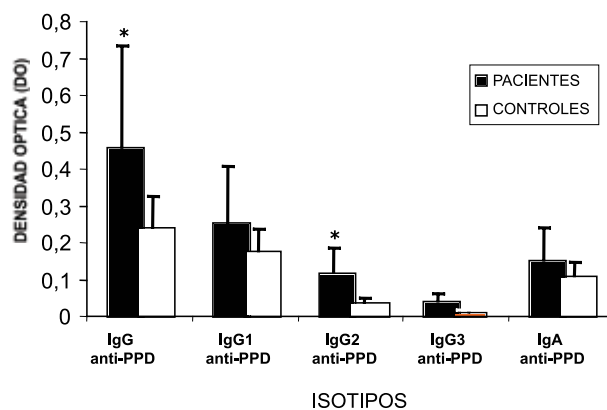


Figura 3. Media ± Desviación estándar de las densidades ópticas de la reactividad de los isotipos IgG, subclases de IgG (IgG1, IgG2 e IgG3) e IgA contra el antígeno PPD. Grupo de pacientes (■) y Grupo de controles (□). \* Significancia estadística entre los grupos.

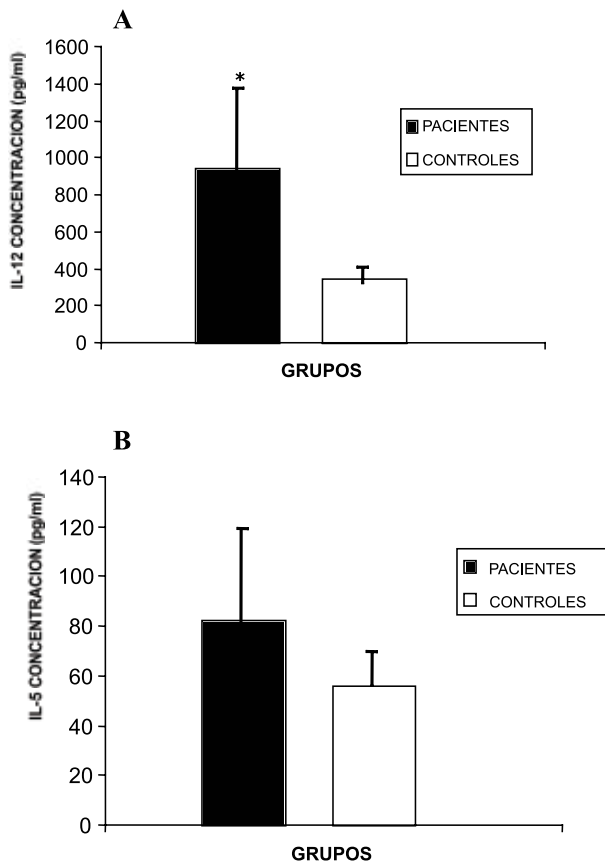


Figura 4. Media  $\pm$  Desviación estándar de las concentraciones de las citoquinas IL-12 (4A) e IL-5 (4B). Grupo de pacientes (■) y Grupo de controles (□).

\* Significancia estadística entre los grupos.

IgG frente al antígeno PPD, lo cual correspondió a una sensibilidad de 66,6 %, mientras que la especificidad fue de 100 % (Tabla 2).

Para el isotipo IgG1 no se encontró diferencia significativa entre las medias de las DO entre los grupos de pacientes ( $0,252 \pm 0,144$ ) y el controles ( $0,174 \pm 0,215$ ), (Figura 3). El cut off fue de  $0,604$ , no se encontró reactividad para este isotipo entre los grupos estudiados, por lo que la sensibilidad de la prueba fue nula, sin embargo, la especificidad fue de 100 % (Tabla 2).

Para la IgG2 anti PPD, se encontró diferencia significativa al comparar las medias de las DO entre los grupos de pacientes ( $0,113 \pm 0,072$ ) y controles ( $0,035 \pm 0,009$ ),  $P < 0,02$ , (Figura 3). El cut off fue  $0,053$ , 8 de los 10 pacientes presentaron reactividad IgG2 anti PPD; mientras que entre los controles, ninguno estuvo por encima del cut off establecido. El método mostró una sensibilidad de 80 % y especificidad de 100 %, (Tabla 2).

En el caso de la IgG3 contra PPD no hubo diferencia significativa entre las medias de las DO entre los grupos de pacientes ( $0,038 \pm 0,036$ ) y controles ( $0,010 \pm 0,008$ ), (Figura 3). El cut off fue

$0,026$ , 3 de los 6 pacientes presentaron reactividad IgG3 anti PPD, y ninguno del controles estuvo por encima del cut off establecido. La sensibilidad fue de 50 % y 100 % específica (Tabla 2).

Con respecto a la reactividad de IgA sérica contra PPD no se encontró diferencia entre las medias de la DO entre los grupos de pacientes ( $0,130 \pm 0,091$ ) y controles ( $0,108 \pm 0,052$ ), (Figura 3). El cut off fue de  $0,212$ . La prueba mostró una sensibilidad de 11,1 % y una especificidad de 100 % (Tabla 2).

### Determinación de citocinas

Al determinar la concentración sérica de IL-12 en el grupo de pacientes se encontró que, la media fue de  $933,67 \pm 858,32$ ; mientras que para el grupo control fue de  $336,6 \pm 97$ . La diferencia fue estadísticamente significativa,  $P < 0,05$  (Figura 4). A partir del cut off establecido que fue de 530 pg/mL, se encontraron 5 pacientes positivos de los 10 que fueron evaluados, el método mostró una sensibilidad de 50 % y una especificidad de 85,7 % (Tabla 2).

En cuanto a la determinación de la concentración sérica de IL-5 en el grupo de pacientes, se encontró que la media fue  $82,29 \pm 40,39$ ; mientras que para el grupo control fue de  $55,6 \pm 15,0$ . A partir del cut off establecido que fue de 85,6 pg/mL, se encontraron 4 pacientes positivos de los 9 que fueron evaluados, el método mostró una sensibilidad de 44,4 % y una especificidad de 100 % (Tabla 2).

## DISCUSIÓN

En el presente trabajo se encontró que entre los pacientes, los tres síntomas más frecuentes fueron en orden de frecuencia: fiebre (incluyendo síndrome febril prolongado), tos y pérdida de peso, lo cual coincide con la mayoría de los trabajos publicados, por lo que estos síntomas continúan siendo pilares fundamentales sobre los cuales debería reposar la sospecha clínica (7,16-21). La radiografía de tórax fue patológica en todos los pacientes, lo cual demuestra su importancia como criterio fundamental en el diagnóstico de tuberculosis, especialmente en niños donde otras evidencias más directas de esta enfermedad son difíciles de obtener (22,23).

Se encontraron niveles bajos de hemoglobina y hematocrito en el grupo de pacientes; este hallazgo podría corresponderse con el hecho de que la TBC es una enfermedad crónica que puede comprometer casi a cualquier órgano, así como con el bajo nivel socioeconómico de los niños estudiados (23).

No hubo confirmación microbiológica en ninguno de los casos. Una explicación podría ser el hecho de que los niños por norma general no son bacilíferos, aunado está también el tipo de muestra utilizada, contenido gástrico, donde el ácido local compromete parcialmente la supervivencia del germen, además la técnica de recolección de dicha muestra es compleja y no siempre es llevada a cabo de manera apropiada lo que disminuye más aún la sensibilidad de la prueba (9,24). Similar situación se ha reportado con la demostración del *M. tuberculosis* por PCR, con el agravante que en las vías digestivas existen micobacterias saprofitas que tiene una constitución genética similar al *M. tuberculosis* lo que aumenta la posibilidad de falsos positivos comprometiendo la especificidad de la prueba (24). La prueba de PCR reportó una sensibilidad baja, de 12,5 %.

Las pruebas inmunológicas mostraron ser más sensibles, la prueba de IgG2 anti PPD mostró la mayor sensibilidad (80 %), seguida de los niveles de IL-5 (44,4 %), ambas con una especificidad de 100 %; lo cual significa que la prueba de IgG2 antiPPD en suero detectó el mayor número de pacientes con la ventaja adicional de no dar falsos positivos. Ha sido reportado que la combinación de antígenos e isotipos mejora la sensibilidad y especificidad de las pruebas para el diagnóstico serológico de TBC (15,25-30), sin embargo, nosotros no encontramos aumentar la sensibilidad realizando combinaciones de las reactividades de los isotipos estudiados, probablemente se pueda conseguir utilizando otros antígenos.

ADA mostró una sensibilidad baja (30 %) con una especificidad elevada (100 %), esta aumentada especificidad no se corresponde con estudios realizados en adultos, donde la determinación de la enzima en suero no ha sido confiable por ser muy poco específica<sup>(31-33)</sup>. Está reportado que en el caso de la tuberculosis pleural, la comprobación de un nivel de 40 U/L o más es de alto valor diagnóstico especialmente si se combina con la medición de las isoenzimas 1 y 2 y la relación entre ellas (31-33).

Finalmente, a pesar de que una de las limitantes de este estudio fue el número de pacientes y controles evaluados, los resultados nos permiten sugerir que el serodiagnóstico con IgG2 contra PPD por presentar una alta sensibilidad y especificidad puede ser una herramienta útil en el diagnóstico de TBC en niños criollos de Venezuela con sospecha clínica y epidemiológica de enfermedad tuberculosa.

## REFERENCIAS

1. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Raviglione MC. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: Estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA. 1999;282:677-686.
2. Sudre P, ten Dam G, Kochi A. Tuberculosis: A global overview of the situation today. Bull World Health Organ. 1992;70:149-159.
3. World Health Organization. Global Tuberculosis Control. Geneva: WHO; 2003.
4. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Seminario Técnico-Administrativo 2000. Caracas: Programa Integrado de Control de la Tuberculosis; 2000.
5. Ward LJ, Hughes SE, Grabau JC. The evaluation of school-based contact investigations in New York State. J Public Health Manag Pract. 2004;10(4):308-315.
6. Kabra SK, Lodha R, Seth V. Some current concepts on childhood tuberculosis. Indian J Med Res. 2004;120(4):387-397.
7. Nelson LJ, Schneider E, Wells CD, Moore M. Epidemiology of childhood tuberculosis in the United States. Pediatrics. 2004;144(2):333-341.
8. Nelson LJ, Wells CD. Global epidemiology of childhood tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis. 2004;8(5):636-647.
9. Donald PR. Childhood tuberculosis: Out of control? Curr Opin Pulm Med. 2002;8(3):178-182.
10. Kabra SK, Lodha R, Seth V. Tuberculosis in children-What has changed in last 20 years? Indian J Ped. 2002;69(13):5-10.
11. Butt T, Ahmad RN, Sami SY. An update on the diagnosis of tuberculosis. Jour Coll Phy Surg. 2003;13(12):728-734.
12. Pfaller MA. Application of new technology to the detection, identification, and antimicrobial susceptibility testing of mycobacteria. Am J Clin Pathol. 1994;101:329-337.
13. Promkiamon B. Comparison of various diagnostic tests in tuberculous pleuritis. Thorac Soc Thai News. 1997;6: 5-9.
14. Giusti E. Adenosine Deaminase. En: Bergmayer HU, editores. Methods of enzymatic analysis. 2ª edición. Nueva York: Academic Press Inc; 1974.p.1092-1099.
15. Araujo Z, de Waard J H, Fernández de Larrea C, et al. Study of the antibody response against Mycobacterium tuberculosis antigens in Warao Amerindian children in Venezuela. Mem Inst Oswaldo Cruz 2004;99:517-524.
16. Marais BJ, Gie RP, Obihara CC, Hesselning AC, Schaaf HS, Beyers N. Well defined symptoms are of value in the diagnosis of childhood pulmonary tuberculosis. Arch Dis Child. 2005 Nov;90(11):1162-5. Epub 2005 Aug 30.
17. Basta PC, Coimbra CE, Escobar AL, Santos RV. Epidemiologic aspects of tuberculosis in the Surua Indians, Brazilian Amazon. Rev Soc Bras Med Trop. 2004;37(4):338-342.
18. Adonis Koffy L. Análisis of the diagnostic criteria used in childhood tuberculosis. Bull Soc Pathol Exot. 2004;97(2):127-128.
19. Che D, Caihol J, Campes C, Decludt B. Epidemiology of tuberculosis in Ile de France in 2001. Rev Mal Respir.

- 2004;21(2Pt1):272-278.
20. Salgueiro M, González J, Zamarron C, Pombo M. Tuberculosis in Santiago de Compostela from 1999 to 2002. *An Med Interna*. 2004;21(5):215-222.
  21. Marais B, Gie R, Schaaf H, Hesselning A. The clinical epidemiology of childhood pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2004;8(3):278-285.
  22. Gray JW. Childhood tuberculosis and its early diagnosis. *Clin Biochem*. 2004;37(6):450-455.
  23. Fernández de Larrea C, Fandiño C, López D, del Nogal B, Rodríguez N, Convit J, et al. Tuberculosis en menores de 15 años en la población Warao, Venezuela. *Invest Clin*. 2002;43(1):35-48.
  24. Bahamman A, Choudhri S, Long R. The validity of acid-fast smears of gastric aspirates as an indicator of pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 1999;3:62-67.
  25. American Thoracic Society. Diagnostic Standard and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161:1376-1395.
  26. Niculescu D, Stefanoiu V, Stavri H, Teodor I, Calin C, Teodor M. Serodiagnosis of extrapulmonary tuberculosis by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Tuberc Lung Dis*. 2000;80:131-140.
  27. Demkow U, Zielonka TM, Strzalkowski J, Michalowska-Mitezuk D, Augustynowicz-Kopec E, Bialas-Chromiec B, et al. Diagnostic value of IgG antibody levels against 38kDa mycobacterial antigen. *Vojnosanit Pregl*. 2002;59:23-28.
  28. Sant Anna CC, Fonseca LS, Feres Saad MH. Relationship between serological diagnosis and severity of pulmonary tuberculosis in children. *Soc Bras Med Trop*. 201;34(6):531-535.
  29. Imaz MS, Comino NA, Zerbine E, Sequeiro MD, et al. Evaluation of the diagnosis value of measuring IgG, IgM and IgA antibodies. *Int J Tub L Dis*. 2001;5(11):1036-1043.
  30. Sanchez M. Serodiagnosis in pulmonary tuberculosis. Clinical evaluation. *Pediatr Infect Dis J*. 1989;8:763-767.
  31. Gakis C. Adenosine deaminase in pleural effusions. *Chest*. 1995;107:1772-1773.
  32. Valdés L, Álvarez D, San José E, Penela P, Valle JM, García-Pazos JM, et al. Tuberculous pleurisy: A study of 254 patients. *Arch Intern Med*. 1998;158:2017-2021.
  33. Riantawan P, Chaowalit P, Wongsangiem M, Rojanaraweewong P. Diagnostic value of pleural fluid adenosine deaminase in tuberculous pleuritis with reference to HIV coinfection and a Bayesian analysis. *Chest*. 1999;116:97-103.