

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA**



## **TESIS DOCTORAL**

**“UTILIDAD DIAGNÓSTICA DEL *QUANTIFERON-TB GOLD TEST IN TUBE*<sup>®</sup> EN LA INFECCIÓN TUBERCULOSA LATENTE Y EN LA ENFERMEDAD TUBERCULOSA EN EDAD PEDIÁTRICA”**

**Dña. ANA M<sup>a</sup> MÉNDEZ ECHEVARRÍA**

**Directores:**

**Prof. Dr. Fernando del Castillo Martín**

**Dra. M<sup>a</sup> José Mellado Peña**

**Madrid, Enero del 2010**



**FERNANDO DEL CASTILLO MARTIN, PROFESOR ASOCIADO DE PEDIATRÍA DE LA U.A.M Y JEFE DE LA UNIDAD DE INFECTOLOGÍA PEDIÁTRICA DEL HOSPITAL LA PAZ, Y M<sup>a</sup> JOSÉ MELLADO PEÑA, MEDICO ADJUNTO DE PEDIATRÍA DEL HOSPITAL CARLOS III Y PRESIDENTA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE INFECTOLOGÍA PEDIATRICA**

**CERTIFICAN:**

Que Dña. **Ana M<sup>a</sup> Méndez Echevarría** ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo presentado como Proyecto de Tesis Doctoral "*Utilidad diagnóstica del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube<sup>®</sup> en la infección tuberculosa latente y en la enfermedad tuberculosa en edad pediátrica*". Dicho trabajo cumple a nuestro criterio todos los requisitos para su presentación y defensa como Tesis para alcanzar el Grado de Doctor.

En Madrid a uno de Diciembre del 2009.

Fdo. Dr. F. del Castillo Martín

Fdo. Dra. M.J. Mellado Peña

**A mi hijo Guillermo,  
por ser lo mejor que me ha pasado en la vida.**

**A mi abuelo el Dr. Antonio Méndez, que dedicó su vida profesional  
al diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**Me gustaría expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas sin las cuales esta tesis doctoral no hubiese sido posible:**

A mis padres, de quienes he aprendido la importancia del trabajo bien hecho y que me han inculcado el afán de superación y el amor a la Medicina.

Al Dr. Fernando del Castillo Martín, Profesor Asociado de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma y Director de esta tesis. Por su ánimo constante y su ayuda permanente, pero sobre todo por su extraordinaria calidad humana que hace que su amistad constituya un auténtico privilegio.

A la Dra. M<sup>a</sup> José Mellado Peña, Presidenta de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica y Codirectora de esta tesis. Gracias a su tenacidad, tesón, entusiasmo y aliento constante ha sido posible su realización.

Al Dr. Miguel González Muñoz, inmunólogo del Hospital Carlos III, cuyo trabajo ha constituido una parte fundamental de este estudio, por su disponibilidad y colaboración.

A Teresa y Carmen, personal de enfermería de la consulta de Pediatría del Hospital La Paz, quienes han colaborado en este estudio, por su paciencia y su sonrisa permanente. A todo el personal sanitario de los 9 Centros participantes que han colaborado de manera desinteresada, por su profesionalidad y rigor científico.

A la Dra. M<sup>a</sup> Jesús García Miguel, que a lo largo de mi formación ha sido referencia y ejemplo, por transmitirme todos sus conocimientos sobre tuberculosis y convertirse en gran amiga y mejor compañera.

Al Dr. Roberto Hernández, Jefe del Servicio de Pediatría del Hospital La Paz, por todo lo que me ha enseñado y por su cercanía en los momentos difíciles. A todos mis compañeros del Servicio de Pediatría del Hospital La Paz, por el trabajo conjunto de todos los días.

A la Asociación Española de Pediatría, mi agradecimiento por la beca concedida que ha contribuido a la financiación del proyecto para realizar los trabajos necesarios en la elaboración de esta tesis doctoral.

Y por encima de todo a mi marido Ramón, a pesar de que me ha rogado que no le incluya en los agradecimientos. Sin embargo y a riesgo de que se enfade no puedo dejar de hacerlo, por hacer fácil la convivencia diaria a pesar de todas mis imperfecciones. Por su apoyo constante y por su colaboración “doméstica” y profesional que él siempre quiere que quede en la sombra.

## **ÍNDICE GENERAL**

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTOS**

<b>TABLA DE ABREVIATURAS</b>	<b>pg. 7</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>pg. 8</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>pg. 11</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>pg. 15</b>
<b>2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>pg. 46</b>
<b>3. DISEÑO, PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>pg. 50</b>
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>pg. 65</b>
<b>5. DISCUSIÓN</b>	<b>pg. 99</b>
<b>6. CONCLUSIONES</b>	<b>pg. 135</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>pg. 138</b>
<b>8. BIBLIOMETRÍA</b>	<b>pg. 163</b>
<b>9. FORMULARIOS Y ANEXOS</b>	<b>pg. 166</b>
<b>10. RESUMEN</b>	<b>pg. 177</b>

## **ÍNDICE DETALLADO**

- **DEDICATORIA**
- **AGRADECIMIENTOS**
- **TABLA DE ABREVIATURAS**
- **ÍNDICE DE TABLAS**
- **ÍNDICE DE FIGURAS**

### **1. INTRODUCCIÓN**

- 1.1. **Epidemiología de la tuberculosis.**
  - 1.1.1. **Situación mundial de la tuberculosis en la actualidad.**
  - 1.1.2. **El papel de la inmigración en la situación epidemiológica actual de la tuberculosis en España.**
  - 1.1.3. **El fenómeno de la adopción internacional.**
- 1.2. **La tuberculosis en la edad pediátrica.**
- 1.3. **Cribado de tuberculosis en niños inmigrantes y adoptados.**
- 1.4. **Limitaciones de la prueba de tuberculina.**
- 1.5. **Vacunación con vacuna BCG.**
  - 1.5.1. **Cicatriz tras la vacunación con BCG y conversión de la prueba de tuberculina.**
  - 1.5.2. **Interpretación de la prueba de tuberculina en niños vacunados con BCG.**
- 1.6. **Infección por micobacterias ambientales y prueba de tuberculina.**
- 1.7. **Nuevos métodos de inmunodiagnóstico. “*Interferon-gamma release assays (IGRAS)*”.**
- 1.8. **Justificación del trabajo de tesis doctoral.**

### **2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **3. DISEÑO, PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1. Diseño del estudio.**

#### **3.2. Centros participantes y colaboradores.**

#### **3.3. Pacientes.**

##### **3.3.1. Criterios de inclusión.**

##### **3.3.2. Criterios de exclusión.**

##### **3.3.3. Identificación de los pacientes y confidencialidad de sus datos.**

#### **3.4. Material y métodos.**

##### **3.4.1. Realización de la prueba de tuberculina.**

##### **3.4.2. Realización del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.**

##### **3.4.3. Método estadístico.**

##### **3.4.4. Método de búsqueda para la identificación de la bibliografía.**

### **4. RESULTADOS**

#### **4.1. Descripción de la población estudiada.**

##### **4.1.1. Datos generales.**

##### **4.1.2. Características de los enfermos tuberculosos.**

##### **4.1.3. Estudio del estado nutricional.**

##### **4.1.4. Situación clínica.**

##### **4.1.5. Vacunación con BCG.**

#### **4.2. Vacunación con BCG y resultados de la prueba de tuberculina.**

#### **4.3. Análisis de los resultados obtenidos con el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.**

##### **4.3.1. Sensibilidad y especificidad.**

##### **4.3.2. Edad, estado nutricional, coinfecciones y resultados del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.**

##### **4.3.3. Resultados del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* en la infección tuberculosa latente y en la enfermedad tuberculosa.**



**4.4. QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® y prueba de tuberculina:**

**Comparación de sus resultados.**

**4.4.1. Induración del Mantoux y cuantificación de interferón-gamma.**

**4.4.2. Análisis de los resultados en niños diagnosticados de infección tuberculosa latente.**

**4.4.3. Análisis de los resultados en vacunados con BCG.**

**4.4.4. Comparación de los resultados del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® y de la prueba de tuberculina en los distintos grupos en función de su riesgo de padecer tuberculosis.**

**4.4.5. Sensibilidad y especificidad de la prueba de tuberculina considerando el QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® como “Gold Standard”. Cálculo de Curvas ROC.**

**4.4.6. Sensibilidad y especificidad del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® considerando la prueba de tuberculina como “Gold Standard”. Cálculo de Curva ROC.**

**5. DISCUSIÓN**

**5.1. Características de los pacientes de nuestra serie.**

**5.1.1. Características de los niños diagnosticados de enfermedad tuberculosa.**

**5.2. Influencia de la vacunación con BCG en el resultado de la prueba de tuberculina**

**5.3. QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®: Discusión de los resultados obtenidos.**

**5.3.1. Sensibilidad y especificidad de la prueba.**

**5.3.2. Resultados indeterminados.**

**5.3.3. Influencia de la edad en el resultado del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®.**

**5.3.4. Influencia del estado nutricional y de las infecciones activas en la respuesta del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®.**

**5.3.5. Producción de interferón-gamma en los pacientes con infección tuberculosa latente y enfermedad tuberculosa.**

**5.3.6. Resultados discordantes.**

**5.3.6.1. Resultados discordantes prueba de tuberculina positiva - QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® negativo.**

**5.3.6.2. Resultados discordantes prueba de tuberculina negativa - QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® positivo.**

**5.3.7. Resultados negativos de la prueba de tuberculina y del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en un caso de meningitis por *Mycobacterium tuberculosis*.**

**5.3.8. QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® y riesgo de tuberculosis.**

**5.4. ¿Son adecuados los puntos de corte establecidos actualmente para la interpretación del Mantoux?**

**5.4.1. Interpretación de la prueba de tuberculina en niños sin cicatriz de BCG.**

**5.4.2. Interpretación de la prueba de tuberculina en niños con cicatriz de BCG.**

**5.4.3. Interpretación del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® midiendo la concentración del interferón-gamma y utilizado como referente la prueba de tuberculina.**

**5.5. Recomendaciones de uso del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en niños en la práctica clínica diaria.**

**6. CONCLUSIONES**

**7. BIBLIOGRAFÍA**

**8. BIBLIOMETRÍA**

**9. FORMULARIOS Y ANEXOS**

**10. RESUMEN**

## **ABREVIATURAS**

- BCG:** Bacilo de *Calmette-Guerin*
- CDC:** Centers for Disease Control and Prevention
- CFP-10:** *Culture Filtrate Protein 10*
- DE:** Desviación estándar
- EIA:** Enzimo-inmunoensayo
- ELISPOT:** Enzimo-inmunospot
- ESAT- 6:** *Early Secretory Antigen Target-6*
- ETB:** Enfermedad tuberculosa
- FDA:** USA Food and Drug Administration
- IFN- $\gamma$ :** Interferón-gamma
- IGRA(S):** *Interferon gamma release assay(s)*
- IN:** Índice nutricional
- ITBL:** Infección tuberculosa latente
- MTB:** *Mycobacterium tuberculosis*
- OMS:** Organización Mundial de la Salud
- PCR:** Polimerase chain reaction / Reacción en cadena de la polimerasa
- PPD:** Proteínas purificadas derivadas de la tuberculina
- PT:** Prueba de tuberculina
- QTF:** *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube<sup>®</sup>; Cellestis, Victoria, Australia.*
- SEIP:** Sociedad Española de Infectología Pediátrica
- TB:** Tuberculosis
- TB-MR:** Cepas multirresistentes de *Mycobacterium tuberculosis*
- TB-R:** Cepas resistentes de *Mycobacterium tuberculosis*
- TB-XDR:** Cepas altamente resistentes de *Mycobacterium tuberculosis*
- TC:** Tomografía computarizada
- TNF- $\alpha$ :** Factor alfa de necrosis tumoral
- TSPOT:** *T-SPOT.TB<sup>®</sup>; Immunotec, Oxford, United Kingdom*
- VIH:** Virus de la inmunodeficiencia humana

## ÍNDICE DE TABLAS

**TABLA 1.** Falsos positivos y negativos de la prueba de tuberculina.

**TABLA 2.** Presencia de *ESAT-6*, *CFP-10* y *MPT64* en las diversas especies de micobacterias.

**TABLA 3.** Diferencias entre la prueba de tuberculina y el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube<sup>®</sup>*.

**TABLA 4.** Comparación de los 2 primeros artículos publicados sobre *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube<sup>®</sup>* en niños.

**TABLA 5.** Interpretación de la prueba de tuberculina en niños. Documento de consenso de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica.

**TABLA 6.** Interpretación de los resultados obtenidos mediante el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube<sup>®</sup>*.

**TABLA 7.** Países de procedencia de los niños inmigrantes y adoptados.

**TABLA 8.** Características clínicas de los enfermos tuberculosos en nuestra serie.

**TABLA 9.** Parásitos intestinales patógenos más frecuentemente aislados.

**TABLA 10.** Coinfecciones virales encontradas en nuestra serie.

**TABLA 11.** Coinfecciones bacterianas encontradas en nuestra serie.

**TABLA 12.** Presencia de cicatriz y de documento de vacunación válido en niños procedentes de países donde se vacuna con BCG (n=396).

**TABLA 13.** Zona de procedencia y porcentaje de vacunación con BCG por zona.

**TABLA 14.** Resultados del Mantoux en población vacunada y no vacunada con BCG, excluyendo los 68 enfermos de tuberculosis (n=391).

**TABLA 15.** Induración del Mantoux en población según vacunación con BCG, excluyendo los 68 enfermos de tuberculosis (n=391).

**TABLA 16.** Resultados de la prueba de tuberculina en función de la edad y de la presencia de cicatriz de BCG.

**TABLA 17.** Resultados del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* en los pacientes de nuestra serie en función del diagnóstico final.

**TABLA 18.** Edad media de los niños con resultados indeterminados y positivos o negativos del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.

**TABLA 19.** Índice nutricional medio de los niños con resultados indeterminados y positivos o negativos del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.

**TABLA 20.** Relación de las coinfecciones con los resultados indeterminados y positivos o negativos del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.

**TABLA 21.** Cantidad de interferón-gamma producida tras estimulación con *ESAT-6* y *CFP-10* en los niños con infección tuberculosa latente y con enfermedad tuberculosa y resultados positivos del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.

**TABLA 22.** Resultados de la prueba de tuberculina y del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* en toda la población.

**TABLA 23.** Resultados de la prueba de tuberculina y del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* en los niños en los cuales no se diagnostica de infección tuberculosa ni de enfermedad tuberculosa.

**TABLA 24.** Resultados de la prueba de tuberculina y del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* en pacientes diagnosticados de infección tuberculosa latente.

**TABLA 25.** Resultados de la prueba de tuberculina y del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* en pacientes con enfermedad tuberculosa.

**TABLA 26.** Comparación de los resultados discordantes de la prueba de tuberculina y del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* en niños sanos, en niños diagnosticados de infección tuberculosa latente y en niños con enfermedad tuberculosa.

**TABLA 27.** Induración del Mantoux en niños con infección tuberculosa latente en función de su resultado del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.

**TABLA 28.** Porcentaje de resultados discordantes prueba de tuberculina positiva - *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* negativo en vacunados y no vacunados con BCG.

**TABLA 29.** Índice *Kappa* en población vacunada y no vacunada con BCG.

**TABLA 30.** Índice *Kappa* en Grupo 1 y Grupo 2.

**TABLA 31.** Índice *Kappa* en inmigrantes y adoptados sin contacto con tuberculosis en función de su estado vacunal con BCG.

**TABLA 32.** Correlación de resultados en función del riesgo real de tuberculosis: Alto riesgo (con contacto con tuberculosis y no vacunados con BCG) y bajo riesgo (sin contacto con tuberculosis y vacunados con BCG).

## ÍNDICE DE FIGURAS

**FIGURA 1.** Datos de la OMS en 2007 sobre incidencia de tuberculosis en las distintas regiones del mundo.

**FIGURA 2.** Porcentaje de casos de tuberculosis multirresistente entre los nuevos casos de tuberculosis, 1994-2007 en las distintas regiones del mundo.

**FIGURA 3.** Edad de los extranjeros con permiso de residencia (Junio del 2009).

**FIGURA 4.** Tuberculosis en población española e inmigrante entre 1996 y 2006 en la Comunidad Autónoma de Madrid.

**FIGURA 5.** Porcentaje de casos de tuberculosis diagnosticados en población inmigrante del total de casos diagnosticados en niños menores de 14 años en el Hospital La Paz desde el año 1978 hasta 2007.

**FIGURA 6.** Principales países de procedencia de los inmigrantes en España a 30 de Junio del 2009.

**FIGURA 7.** Porcentaje de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* multirresistente aisladas en casos de tuberculosis en población autóctona e inmigrante.

**FIGURA 8.** Número total de niños procedentes de adopciones internacionales llegados a España anualmente (periodo 1997-2007).

**FIGURA 9.** Países de origen de niños procedentes de adopción internacional en España.

**FIGURA 10.** Países en los cuales la BCG forma parte de su programa nacional de inmunización y porcentaje de población vacunada. En nuestro país solo la Comunidad Autónoma Vasca vacuna de BCG, por lo que la OMS considera a España como país que no administra BCG.

**FIGURA 11.** Porcentaje de pacientes no vacunados y vacunados con BCG hace más de 5 años con respuesta a la prueba de tuberculina en función de sus milímetros de induración.

**FIGURA 12.** Producción de interferón-gamma por linfocitos T tras entrar en contacto con el *Mycobacterium tuberculosis*.

**FIGURA 13.** Esquema de la composición genética de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* y del bacilo de Calmette-Guerin en función de la presencia o ausencia de *Early Secretory Antigen Target-6*.

**FIGURA 14.** Cantidad de interferón-gamma producido tras estimular los linfocitos T con PPD o *ESAT-6* en pacientes con enfermedad tuberculosa, en vacunados y en no vacunados con BCG.

**FIGURA 15.** Mecanismos inmunológicos desencadenados tras la administración de la prueba de tuberculina y en la realización de “*Interferon gamma release assays*”.

**FIGURA 16.** Proceso de obtención del suero problema y de estimulación linfocitaria con antígenos previo a la determinación del interferón-gamma.

**FIGURA 17.** Diagnóstico final de los pacientes de nuestra serie.

**FIGURA 18.** Zonas de procedencia de los niños inmigrantes y adoptados.



**FIGURA 19.** Lugar de origen de los niños adoptados e inmigrantes.

**FIGURA 20.** Diagnóstico final de los pacientes del Grupo 1.

**FIGURA 21.** Diagnóstico final de los pacientes del Grupo 2.

**FIGURA 22.** Diagnóstico final de los pacientes del Grupo 3.

**FIGURA 23.** Índice nutricional según la zona de procedencia.

**FIGURA 24.** Estado nutricional de los niños inmigrantes y adoptados.

**FIGURA 25.** Relación de la edad con los resultados del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.

**FIGURA 26.** Relación del índice nutricional de McLaren con los resultados del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.

**FIGURA 27.** La cantidad de interferón-gamma producida tras la estimulación inespecífica de los linfocitos es igual en los distintos grupos de edad.

**FIGURA 28.** La cantidad de interferón-gamma producida tras la estimulación inespecífica de los linfocitos no varía en función del estado nutricional de los pacientes.

**FIGURA 29.** Correlación entre induraciones del Mantoux y cantidad de interferón-gamma producida tras estimular con *Early Secretory Antigen Target-6* y *Culture Filtrate Protein 10*.

**FIGURA 30.** Milímetros de induración de la prueba de tuberculina en pacientes con infección tuberculosa latente en función de su resultado de *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.

**FIGURA 31.** Porcentaje de niños vacunados y no vacunados con BCG diagnosticados de infección tuberculosa latente con resultados negativos y positivos del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* (excluyendo los indeterminados).

**FIGURA 32.** Curva ROC para la prueba de tuberculina considerando el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* como “*Gold Standard*” en población sin cicatriz de vacuna BCG.

**FIGURA 33.** Curva ROC para la prueba de tuberculina considerando el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* como “*Gold Standard*” en población con cicatriz de vacuna BCG.

**FIGURA 34.** Curva ROC para el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* considerando como “*Gold Standard*” la prueba de tuberculina realizada en población con contacto con tuberculosis o con clínica compatible y sin cicatriz de vacuna BCG.

## **CAPÍTULO 1**

---

### ***INTRODUCCIÓN***

## **1.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA TUBERCULOSIS**

### **1.1.1. Situación mundial de la tuberculosis en la actualidad.**

La tuberculosis (TB) continúa siendo una de las causas más importantes de enfermedad y muerte en muchos países y un importante problema de Salud Pública Internacional. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) un tercio de la población mundial está infectada por *Mycobacterium tuberculosis (MTB)*, 2 millones de personas fallecen anualmente por TB, y cada año 9 millones de personas desarrollan la enfermedad, el 11% son menores de 15 años, con un millón de niños fallecidos anualmente<sup>1</sup>.

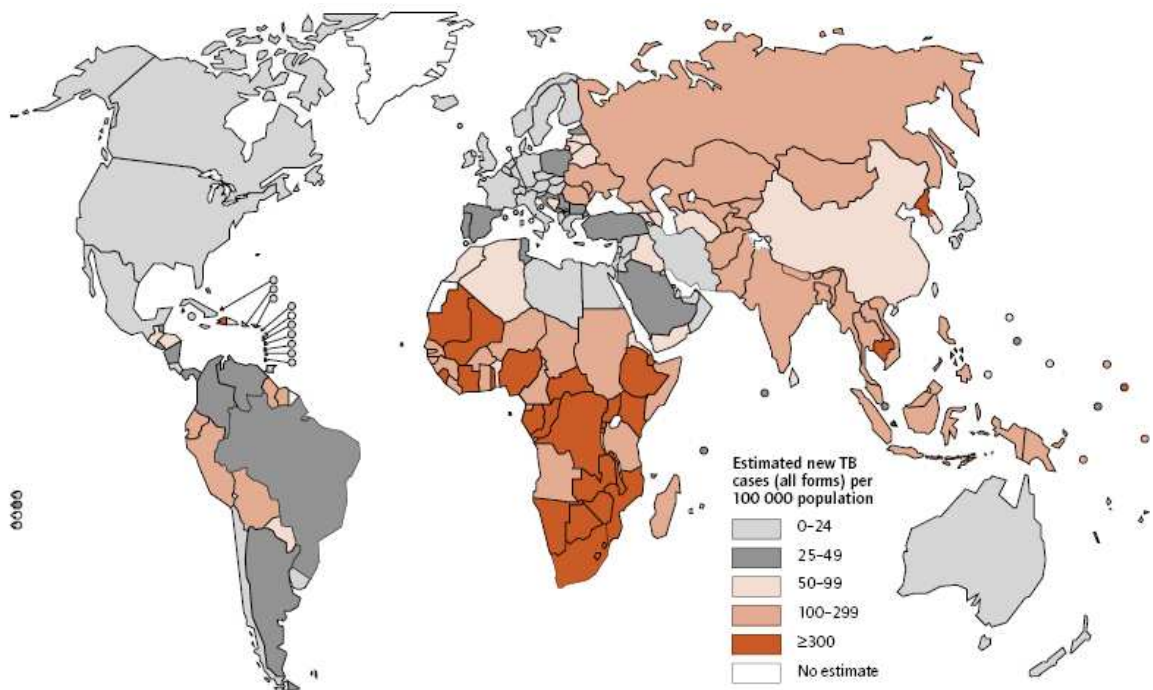
En 2007, la OMS estimó una prevalencia mundial de TB de 206 casos por 100.000 habitantes, con una distribución muy desigual (51/100.000 en Europa y 475/100.000 en África)<sup>2</sup>. El número estimado de nuevos casos de TB en 2007 fue de 9,27 millones (139 por 100.000 habitantes) de los cuales la mitad eran bacilíferos, y por tanto potenciales fuentes de contagio<sup>2</sup>.

La situación mundial de la TB es un fiel reflejo del profundo desequilibrio económico y social que existe entre los países ricos y pobres, encontrándose el 75% de los casos en países en vías de desarrollo<sup>1</sup>. Es precisamente desde estas regiones con escasos recursos y alta endemia de TB, de donde proceden las personas que emigran a los países ricos. El 83% del total de los nuevos casos de TB son diagnosticados en África, Asia Sudoriental y el Pacífico Occidental<sup>3</sup>, siendo África el continente con mayor tasa de incidencia (363 por 100.000 habitantes)<sup>2</sup>. La India, China, Indonesia, Sudáfrica y Nigeria ocupan, por este orden, los cinco primeros países en cifras absolutas de casos<sup>2</sup> (*Figura 1*).

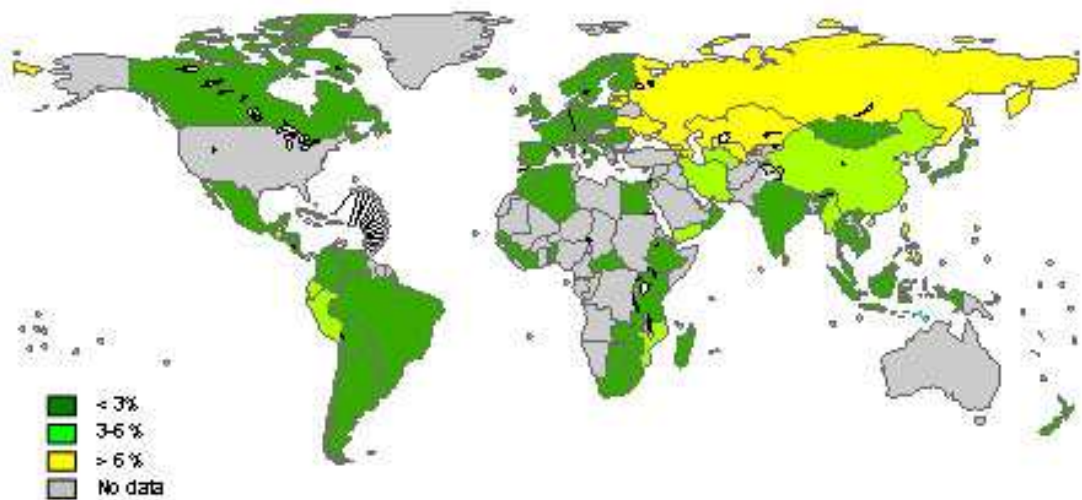
En Europa, según la Red de Vigilancia de TB en 32 países (*EuroTB*) la tasa media de notificación en 2005 fue de 18 casos nuevos por 100.000

habitantes, con tasas mínimas de 10 por 100.000 en 15 países y máximas muy superiores a 25 por 100.000 en países del Este de Europa como Rumanía con 135 casos nuevos/100.000 habitantes/año<sup>4</sup>.

Otro fenómeno importante que debemos considerar es el progresivo incremento de casos de cepas de *MTB* resistentes a algún fármaco de primera línea (TB-R) y multi-resistentes (TB-MR) con resistencia comprobada al menos a isoniazida y rifampicina<sup>5,6</sup>. Este fenómeno ocurre principalmente en países del Este de Europa, Asia y determinadas zonas del sur de América<sup>7</sup> (Figura 2). En Europa existe una desigual distribución de los casos resistentes y multirresistentes, con una elevada tasa de TB-MR en países del Este de Europa<sup>4</sup>. Más recientemente se han descrito cepas de *MTB* multirresistente que además de ser resistentes a isoniazida y rifampicina presentan resistencia a todas las fluorquinolonas y por lo menos a uno de los 3 fármacos inyectables de 2<sup>a</sup> línea, con la nueva denominación de TB extremadamente resistente (TB-XDR)<sup>8</sup>.



**Figura 1.** Datos de la OMS en 2007 sobre incidencia de tuberculosis en las distintas regiones del mundo<sup>2</sup>.



**Figura 2.** Porcentaje de casos de tuberculosis multirresistente entre los nuevos casos de tuberculosis, 1994-2007 en las distintas regiones del mundo<sup>8</sup>.

### **1.1.2. El papel de la inmigración en la situación epidemiológica actual de la tuberculosis en España.**

El *MTB* se ha convertido en un bacilo sin fronteras, ya que la población de los países con alta prevalencia de TB está emigrando a países de rentas más altas como el nuestro. Aunque no existe una relación directa entre el porcentaje de inmigrantes en nuestro medio y la tasa de TB, ya que la tasa también se mantiene a expensa de los casos de TB autóctonos, el aumento de cepas resistentes si está claramente relacionado con el aumento de población inmigrante<sup>6,9</sup>. Esta población procede de zonas de alta endemia de TB con pobre cumplimiento terapéutico y escasas actuaciones de terapia directamente observada, solo disponible en algunos programas nacionales de control de TB<sup>10</sup>.

Los países en los que se considera que existe un buen control de la enfermedad son aquellos que presentan una baja incidencia con tasas menores de 20 casos por 100.000 habitantes. La OMS estima para España en 2007 una incidencia global de 30 nuevos casos por 100.000 habitantes/año y por tanto no lo considera un país de baja incidencia<sup>11</sup>. España y Portugal fueron los países del Oeste de Europa con mayor incidencia de TB en el año 2005<sup>4</sup>.

La epidemiología de la TB en España estuvo muy influenciada en los años 80 y 90 por la epidemia del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y la frecuente coinfección con TB<sup>9</sup>. Con la introducción de las nuevas terapias antirretrovirales a partir del año 1996, los casos de TB asociados a pacientes infectados por el VIH comenzaron a descender, constatándose un declive en la incidencia global de TB. Sin embargo, a partir del año 2000 se produce en nuestro país un gran cambio demográfico debido a la llegada masiva de personas procedentes de países con escasos recursos, lo que ha contribuido en parte a ralentizar el descenso previsto de los casos de TB, de tal forma que actualmente la principal variable asociada a padecer la enfermedad es ser de origen extranjero, superando al factor de riesgo de ser VIH positivo<sup>9,12</sup>.

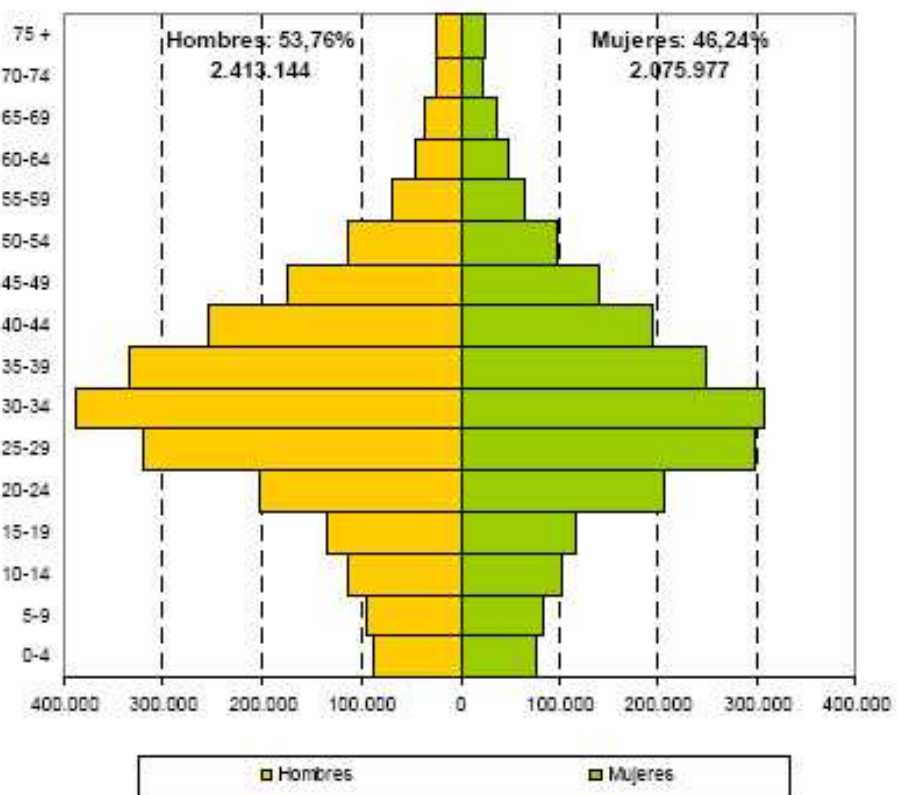
El patrón epidemiológico actual se caracteriza por un alto porcentaje de casos que corresponden a inmigrantes de países con elevada prevalencia de TB con un descenso de la edad de los enfermos, ya que el fenómeno de la inmigración afecta básicamente a sectores jóvenes de la población: niños y población trabajadora entre 20 y 40 años<sup>9,13</sup> (*Figura 3*).

Actualmente en España la tasa de TB en inmigrantes supera a la tasa en la población nacida en España<sup>9,14</sup>, aunque este fenómeno se observa fundamentalmente en el grupo etario de adultos jóvenes y niños, dado que la tasa de TB en pacientes españoles infectados por el VIH y en personas mayores de 60 años se sigue manteniendo.

Este hecho se hace muy patente en las grandes urbes, como Madrid y Barcelona, dos de las ciudades con mayor afluencia de inmigración, donde el porcentaje de enfermos extranjeros ha aumentado de manera llamativa en los

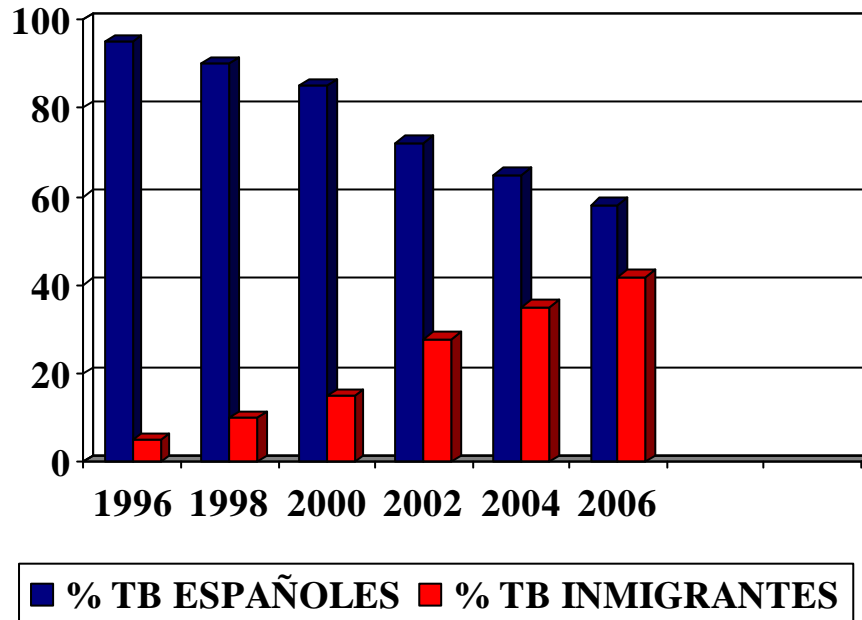
últimos años (*Figura 4*), con tasas de incidencia de TB entre los inmigrantes por encima de 100 casos por 100.000 habitantes<sup>9,14</sup>. Este dato se refleja en poblaciones especiales como los niños. Así en un estudio realizado en el Hospital Infantil La Paz de Madrid se observó que en los años 80 solo entre un 2% y un 8% de los niños diagnosticados de enfermedad tuberculosa (ETB) eran inmigrantes. En este mismo hospital durante el año 2007 el 75% de las ETB diagnosticadas fueron niños inmigrantes<sup>15</sup> (*Figura 5*).

Los países de origen de los inmigrantes en España son prioritariamente Ecuador, Marruecos, Colombia y países del Europa del Este<sup>13</sup> (*Figura 6*), todos ellos con tasas de TB estimadas superiores a 80 casos por 100.000 habitantes y con tasas de resistencia muy superiores a las observadas en población autóctona española (*Figura 7*).

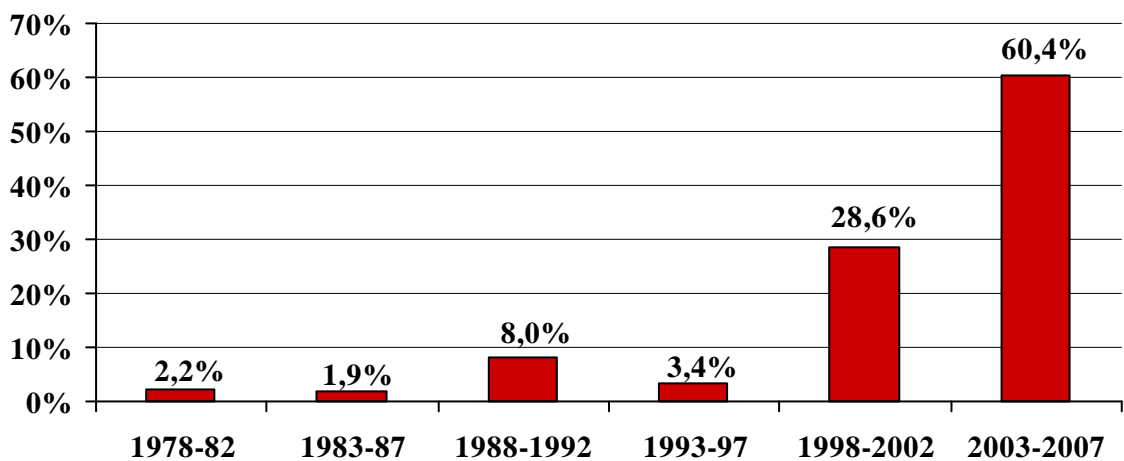


**Figura 3.** Edad de los extranjeros con permiso de residencia (Junio de 2009)<sup>12</sup>.

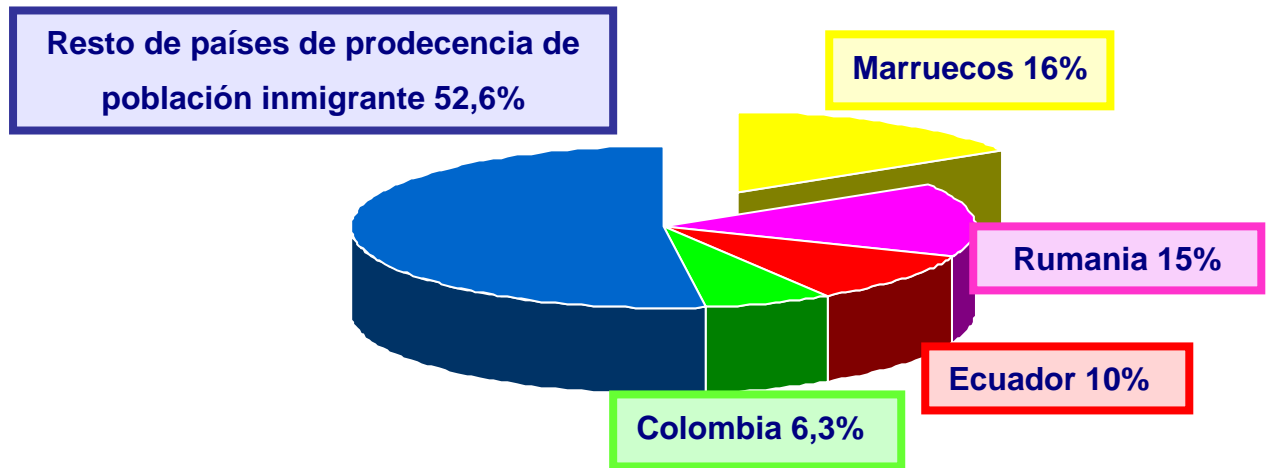




**Figura 4.** Tuberculosis en población española e inmigrante entre 1996 y 2006 en la Comunidad Autónoma de Madrid<sup>12</sup>.



**Figura 5.** Porcentaje de casos de tuberculosis diagnosticados en población inmigrante del total de casos diagnosticados en niños menores de 14 años en el Hospital La Paz desde el año 1978 hasta 2007<sup>15</sup>.



**Figura 6.** Principales países de procedencia de los inmigrantes en España a 30 de Junio de 2009<sup>13</sup>.

El aumento de casos de TB en población inmigrante así como de casos de TB-R y TB-MR en este colectivo ha originado un aumento de las tasas de resistencia global en nuestro país, situándose la tasa de resistencia primaria a fármacos de primera línea en un 8,3% y de resistencia a isoniazida en población global (autóctona e inmigrante) en torno al 4,9%<sup>16</sup>. A partir de que estas cifras se han conocido en nuestro país, es decir una tasa de resistencia a isoniacida superior al 4%, la Sociedad Española de Infectología Pediátrica (SEIP) ha modificado sus recomendaciones a pautas empíricas de tratamiento con cuatro fármacos durante el periodo de inducción en niños, hasta que se conozca la sensibilidad de la cepa fuente del contagio<sup>17</sup>.

La población inmigrante con frecuencia desarrolla la enfermedad en los 5 primeros años de su llegada a España debido fundamentalmente a condicionantes socio-económicos desfavorables que favorecen la progresión de la misma, desarrollándola el 50% en los primeros 2 años tras su llegada<sup>18</sup>.

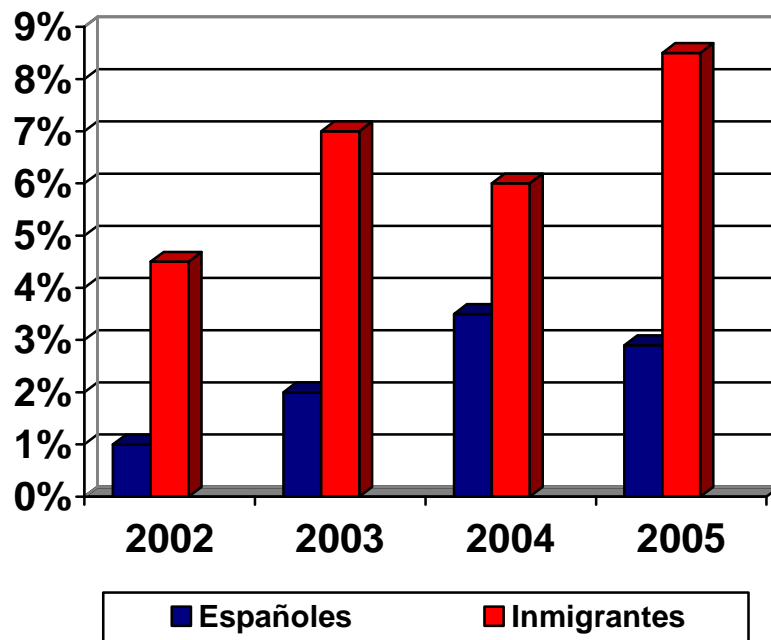
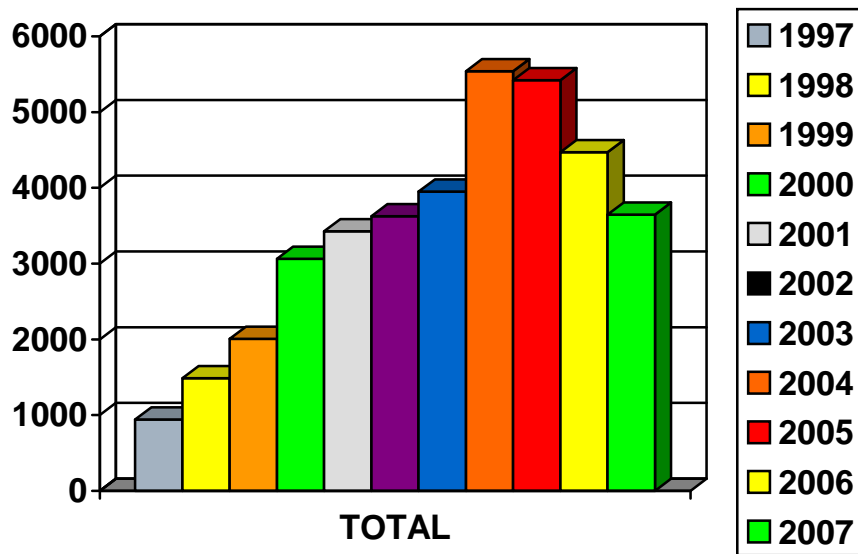


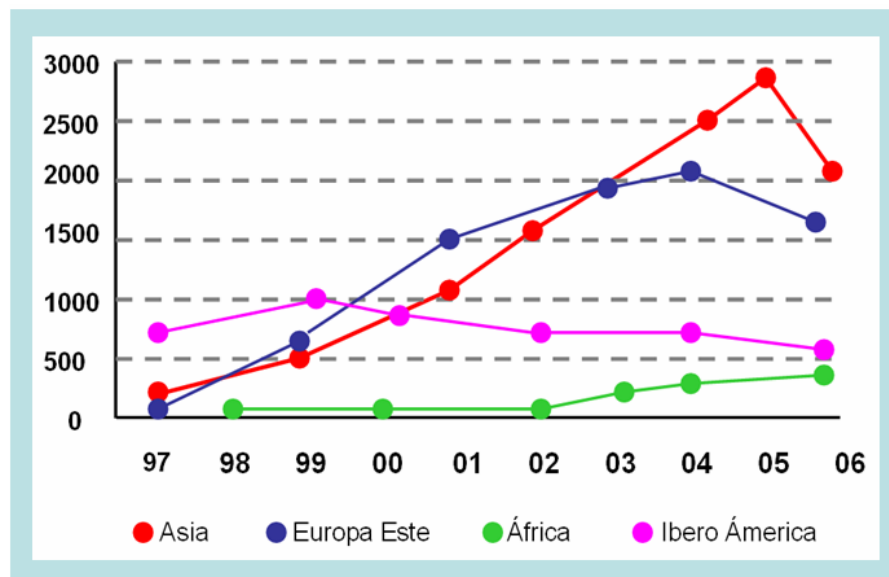
Figura 7. Porcentaje de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* multirresistente aisladas en casos de tuberculosis en población autóctona e inmigrante<sup>4</sup>.

### 1.1.3. El fenómeno de la adopción internacional.

Los niños de países con escasos recursos que vienen a vivir en familias españolas a través de programas de adopción internacional constituyen otro subgrupo de población con riesgo de desarrollar TB<sup>9,19</sup>. Estos niños proceden de países con alta endemia de la enfermedad, han vivido en instituciones cerradas con escaso acceso a servicios médicos y en contacto con personal con altas tasas de ETB<sup>20</sup>. Desde principios de los años 90 se ha producido en España un aumento progresivo del número de adopciones internacionales, siendo junto con EEUU y Suecia, uno de los países con mayor número de niños adoptados, registrándose en 2005 más de 5.000 adopciones internacionales<sup>21</sup> (Figura 8). Clásicamente China y los países de Hispanoamérica y de Europa del Este eran los destinos de adopción prioritarios y recientemente se ha sumado Etiopía a los tres principales países de procedencia. En la actualidad China, la Federación Rusa y Colombia son los principales países de origen de los menores procedentes de adopción internacional en España<sup>21</sup> (Figura 9).



**Figura 8.** Número total de niños procedentes de adopciones internacionales llegados a España anualmente (periodo 1997-2007)<sup>21</sup>.



**Figura 9.** Países de origen de los niños procedentes de adopción internacional en España<sup>21</sup>.

## **1.2. LA TUBERCULOSIS EN LA EDAD PEDIÁTRICA**

El estudio de la TB infantil es de gran valor epidemiológico, debido a que cualquier niño infectado representa un evento centinela de una transmisión reciente de *MTB* en la comunidad, siendo la fuente de contagio generalmente un familiar bacilífero próximo al menor<sup>22</sup>. Por tanto el número de casos de niños enfermos o infectados es un fiel indicador de la situación epidemiológica en dicha comunidad.

Además los lactantes y niños representan una población especialmente susceptible de desarrollar ETB tras exponerse a un enfermo bacilífero y tienen por tanto un riesgo muy superior al de los adultos de evolucionar de infectado a enfermo, sobre todo si se asocia malnutrición, inmunodepresión, primoinfección reciente o es un niño de corta edad, estimándose que hasta el 50% de los menores de un año desarrollaran enfermedad activa tras la primoinfección<sup>23,24</sup>. En los niños menores de 2-3 años la infección latente es más aparente que real y es más probable que tengan realmente una ETB aunque estén asintomáticos<sup>25,26</sup>. En este grupo de edad con prueba de tuberculina (PT) positiva y radiografía de tórax normal, aunque no existe consenso uniforme, algunos autores indican realizar una tomografía computarizada (TC) de tórax que puede demostrar afectación ganglionar que hubiese pasado desapercibida sin dicha exploración<sup>27</sup>. Debemos considerar también que el riesgo de padecer formas graves como la ETB miliar o la meningoencefalitis es mucho mayor en niños pequeños que en escolares o adolescentes y que en población adulta.

Realizar un diagnóstico precoz de la primoinfección tuberculosa en población pediátrica es muy importante, ya que permite instaurar una quimioprofilaxis secundaria que evite la progresión a ETB y la aparición de formas graves diseminadas, así como detectar focos cercanos de contagio en el entorno familiar próximo realizando por tanto el tratamiento y el control del adulto bacilífero, que es el mejor modo de control de la cadena epidemiológica de la TB.

La actuación de pediatras expertos es por tanto clave en el control de la enfermedad, debiendo conocer la situación de riesgo de TB del niño y, en caso de enfermedad en el entorno familiar, valorar adecuadamente el cuidado, el seguimiento y el tratamiento del menor. Se debe extremar el rigor al encasillar en el estadio correspondiente de la enfermedad a cada paciente, ya que el enfoque terapéutico es distinto en cada uno de ellos.

Por otro lado, el diagnóstico de la ETB en niños es una tarea compleja, ya que hasta en un 70% de casos según diversas series no se consigue confirmación microbiológica con aislamiento del *MTB*<sup>6,28</sup>. Esto se explica por el desarrollo de formas de ETB pulmonar no cavitadas y paucibacilares tras la primoinfección. Además, el niño no es capaz de expectorar como el adulto, dificultando todo ello la obtención de muestras adecuadas para cultivo, teniendo que recurrir al cultivo de jugos gástricos o de esputo inducido. Por tanto, en un porcentaje no despreciable de casos deberemos establecer un diagnóstico basado en criterios clínicos y epidemiológicos.

La presentación clínica de la ETB en pediatría muestra una gran variabilidad, con formas en ocasiones oligosintomáticas que debutan de manera larvada. Para dificultar aún más nuestra tarea, algunos lactantes con ETB pulmonar pueden no mostrar inicialmente alteraciones significativas en la radiografía de tórax dado que las adenopatías mediastínicas pequeñas próximas al hilio y al timo pueden pasar desapercibidas.

Con todo ello concluimos que, a pesar de la importancia de establecer un diagnóstico precoz y correcto de la ETB en niños, los pediatras nos seguimos encontrando actualmente con innumerables dificultades a la hora de realizar esta importante tarea.

### **1.3. CRIBADO DE TUBERCULOSIS EN NIÑOS INMIGRANTES Y ADOPTADOS**

El creciente número de niños inmigrantes o adoptados procedentes de países de alta endemia de TB parece ser un factor que determina el aumento de la ETB infantil en España. La transmisión del *MTB* desde el adulto bacilífero en el caso de los niños que emigran con el núcleo familiar es fácil de comprender, si tenemos en cuenta que la mayoría de las familias llegan a vivir en casas con una media de 2,3 personas por habitación y que el 88% de las mismas comparten domicilio<sup>29</sup>. En el Plan de Control de la TB en España desarrollado por el Ministerio de Sanidad y Consumo se considera indicada la realización de una PT en el primer contacto de estos niños con el sistema sanitario para detectar a los infectados<sup>30</sup>. Es igualmente necesario realizar un posterior seguimiento periódico de los niños con resultado negativo del Mantoux, debiendo repetirse la prueba cuando se normalicen las condiciones médicas tras su llegada o se produzcan situaciones que incrementen el riesgo de infección TB (viaje a país de procedencia, exposición a bacilífero o a personas pertenecientes a grupos de alto riesgo...)<sup>20</sup>.

La SEIP recomienda igualmente la realización de una PT a todo niño inmigrante en su primer examen de salud en nuestro país basándose en los datos previamente expuestos (aumento de casos en población inmigrante procedente de zonas de alta endemia y con altas tasas de resistencias, riesgo de desarrollar la enfermedad en los primeros años tras su llegada al país y mayor riesgo de los niños de enfermar y de padecer formas graves)<sup>27</sup>. Decisiones similares son respaldadas por otros organismos en otros países<sup>31,32</sup>. Si después de este cribado inicial el pediatra encuentra un resultado positivo de la PT debe realizar tres intervenciones: 1) Descartar la enfermedad mediante la realización de pruebas complementarias. 2) Establecer una pauta de profilaxis o tratamiento. 3) Iniciar un estudio de posibles contactos en los familiares y otros adultos cercanos al niño. No debemos olvidar las implicaciones de estas tres intervenciones, no solo por el

aumento del gasto sanitario que conllevan, sino porque se expone al niño a tratamientos potencialmente tóxicos y a la radiación con pruebas de imagen, ya que es necesario en ocasiones la realización de una TC para descartar la ETB. Igualmente implican preocupación y angustia familiar ante la posibilidad de una enfermedad grave y aún estigmatizante como la TB. Por ello resulta fundamental establecer un diagnóstico no solo precoz sino también correcto. El retraso diagnóstico de la infección tuberculosa latente (ITBL) favorecería el desarrollo de la ETB y la aparición de formas graves. Sin embargo una lectura erróneamente positiva de la PT daría lugar a una sobreestimación de casos, con las consecuencias descritas anteriormente.

#### **1.4. LIMITACIONES DE LA PRUEBA DE TUBERCULINA**

La PT fue desarrollada en 1890 por Charles Mantoux. Cuenta con más de 100 años de existencia, siendo uno de los tests diagnósticos más antiguos que continúa en uso actualmente y por el momento, el único método para identificar la ITBL aunque con importantes limitaciones<sup>33</sup>. Esta prueba se basa en que la infección por *MTB* produce una hipersensibilidad retardada tipo IV a ciertos componentes antigénicos del bacilo que están contenidos en extractos filtrados de cultivo llamados “tuberculinas”. La técnica emplea proteínas purificadas derivadas de la tuberculina (PPD) que se inyectan a nivel intradérmico, lo que estimula a los linfocitos T sensibilizados, los cuáles se activan produciendo citocinas. Estas originan una reacción inflamatoria local que se manifiesta por una zona de induración eritematosa en el sitio de inyección que se denomina intradermorreacción de Mantoux<sup>27</sup>.

Es una prueba que precisa una administración rigurosa y un personal experto para evitar falsos resultados. Por otro lado, su interpretación depende de una lectura subjetiva con gran variabilidad entre los lectores. Presenta además resultados falsos negativos fundamentalmente debidos a la edad, la malnutrición, la inmunodepresión y la presencia de infecciones activas o vacunación en el último mes con vacuna de virus vivos atenuados<sup>27</sup> (*Tabla 1*). Existe un periodo ventana



de 4 a 12 semanas después de la exposición a *MTB* que puede ocasionar igualmente resultados negativos en individuos infectados<sup>27</sup> (Tabla 1).

Más importante es el hecho de la aparición de probables falsos positivos por vacunación previa con bacilo de Calmette-Guerin (BCG), que es un bacilo vivo atenuado de una cepa de *Mycobacterium bovis*, o bien por la exposición a micobacterias ambientales, que darían lugar a una sobreestimación de casos de ITBL<sup>27</sup> (Tabla 1).

**Tabla 1.** Falsos positivos y negativos de la prueba de tuberculina<sup>27</sup>.

Falsos negativos	Falsos positivos
<p><u>1. Factores relacionados con el niño</u></p> <p>Periodo ventana                      ETB diseminada                      Neonatos                      VIH o tratamiento inmunosupresor                      Infecciones virales, bacterianas o parasitarias                      Vacuna de virus vivos atenuados en 2 meses previos                      Malnutrición                      Insuficiencia renal crónica                      Enfermedades neoplásicas</p>	<p>Infección por otras micobacterias</p> <p>Vacunación BCG</p>
<p><u>2. Factores relacionados con la técnica</u></p> <p>Inyección demasiado profunda                      Antígeno caducado o conservación inadecuada                      Lectura errónea</p>	

El diagnóstico de la ETB en la población pediátrica continúa siendo hoy un desafío debido a la escasez y poca especificidad de síntomas acompañantes por lo que consideramos una prioridad el desarrollo de nuevas armas diagnósticas para mejorar la detección de casos. La subjetividad a la hora de leer e interpretar la induración producida en la intradermorreacción de Mantoux, así como la falta de especificidad y sensibilidad de la PT, dificulta la realización de un diagnóstico correcto de ITBL. En ocasiones los pacientes recibirán innecesariamente tratamiento prolongado con isoniacida, o se realizarán estudios de imagen innecesarios. En otras, niños verdaderamente infectados serán clasificados como no infectados por *MTB* y podrán desarrollar posteriormente la enfermedad.

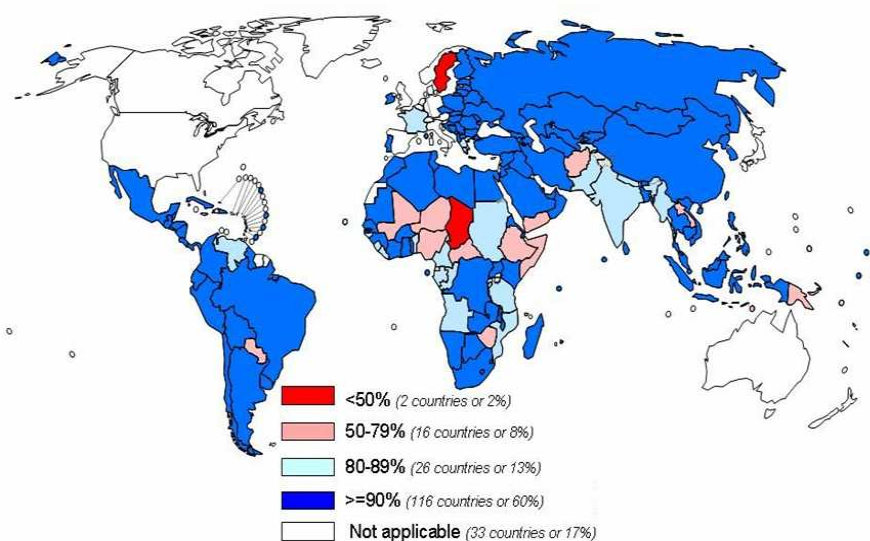
Sin embargo, a pesar de todos estos inconvenientes, la PT sigue siendo la prueba utilizada actualmente para el cribado de TB y para la realización de estudios epidemiológicos.

## **1.5. VACUNACIÓN CON VACUNA BCG**

La vacuna BCG fue desarrollada hace más de 90 años, siendo actualmente una vacuna administrada muy ampliamente en los distintos programas nacionales de inmunización en países con alta endemia de TB y alcanzando coberturas superiores al 80% en la mayor parte de los mismos<sup>34</sup> (*Figura 10*). Los programas de inmunización incluyen su administración habitualmente en el periodo neonatal y, a pesar de que la OMS recomienda la administración de una única dosis, en algunos países es común la práctica de la revacunación<sup>20</sup>.

Siendo una vacuna tan ampliamente utilizada, tiene un efecto limitado en la transmisión de la infección<sup>35</sup> y, lo que es más importante, no evita la reactivación de la infección pulmonar latente, principal fuente de propagación del *MTB* en la comunidad. Su utilidad en la prevención de la ETB resulta controvertida<sup>36</sup>, presentando escasa protección frente a las formas pulmonares<sup>37,38</sup>, alcanzando tan solo una prevención del 60% de las mismas en niños<sup>39</sup>.

Sin embargo, es bastante eficaz en la prevención de formas diseminadas y graves como la meningitis<sup>37-39</sup>, motivo que justifica su indicación generalizada en niños de países con alta endemia de TB.



**Figura 10.** Países en los cuales la BCG forma parte de su programa nacional de inmunización y porcentaje de población vacunada<sup>34</sup>. En nuestro país solo la Comunidad Autónoma Vasca vacuna de BCG, por lo que la OMS considera a España como país que no administra BCG.

### **1.5.1. Cicatriz tras la vacunación con BCG y conversión de la prueba de tuberculina.**

La administración intradérmica de forma correcta de la vacuna BCG ocasiona casi siempre en el lugar de la inyección (zona deltoidea del brazo, habitualmente derecha) reacciones locales menores (eritema, esclerosis) que al cabo de pocos meses se resuelven dejando una pequeña cicatriz residual.

Existen factores que condicionan la aparición de esta cicatriz. El estado inmunitario, nutricional<sup>38</sup>, la edad en el momento de vacunación<sup>40-42</sup>, la habilidad del administrador de la vacuna<sup>38</sup>, la cepa de BCG administrada<sup>38</sup>, la dosis<sup>42</sup> y vía de administración<sup>38</sup>, y el tiempo transcurrido desde la vacunación<sup>41,42</sup> pueden influir en la intensidad de estas reacciones y en la aparición de la cicatriz, que según algunas series puede no generarse en un porcentaje variable de casos (1-49%)<sup>41,43-48</sup>.

Es importante igualmente conocer las condiciones de conservación de la vacuna<sup>41</sup> ya que influyen en la generación de la cicatriz, no debiendo olvidar que la correcta preservación de las mismas en países en vías de desarrollo no siempre es posible. Estudios realizados en Zimbawe comprueban como solo el 7% de las vacunaciones BCG se administraban correctamente<sup>49</sup>. Cuando las condiciones de vacunación son adecuadas y monitorizadas en ensayos de vacunación entre el 89 y el 99% de los pacientes desarrollan cicatriz en zona deltoidea<sup>38,41,43,46</sup>, mientras que el porcentaje de cicatriz producida en niños vacunados en Centros de Salud en Malawi es muy inferior<sup>41,43</sup>.

En países sin vacunación BCG como el nuestro, debido al aumento de inmigración, es importante la valoración de la historia previa de BCG a la hora de interpretar la PT<sup>42</sup>. Sin embargo en múltiples ocasiones los niños procedentes de otros países no aportan documento de vacunación.

Múltiples estudios describen la correlación existente entre el desarrollo de cicatriz y la respuesta a la PT<sup>41,43,50-52</sup> y por ello la presencia de cicatriz es utilizada en la mayor parte de los estudios como verdadero indicador de vacunación BCG<sup>37,41,43,54,55</sup>. Además, en los niños revacunados la PT puede dar lugar a induraciones aún de mayor tamaño<sup>20</sup>. Sin embargo no hay evidencia de que la conversión de la PT tras vacunación se correlacione con mayor protección<sup>53</sup> y por tanto la presencia de cicatriz implica la correcta administración de la vacuna pero no asegura la inmunogenicidad de la misma<sup>41</sup>.

Un porcentaje importante de niños vacunados correctamente presentan Mantoux negativo, como observa una reciente serie realizada en nuestro país que incluye niños pequeños (edad media 2,2 años) procedentes de adopción internacional. Los autores observan como el 81,6% de los niños presentaba cicatriz de vacunación BCG pero tan solo el 13,3% de los mismos desarrollo induraciones iguales o superiores a 10 mm tras administrar la PT<sup>56,57</sup>.

### **1.5.2. Interpretación de la prueba de la tuberculina en niños vacunados con BCG.**

Existe un porcentaje de niños vacunados en condiciones inadecuadas que no desarrollaran cicatriz y, ya que la presencia de la misma se ha correlacionado algo más con la reactividad de la PT que el documento de vacunación, la presencia de cicatriz es considerada como el verdadero indicador de vacunación a la hora de interpretar el Mantoux<sup>37,41</sup>.

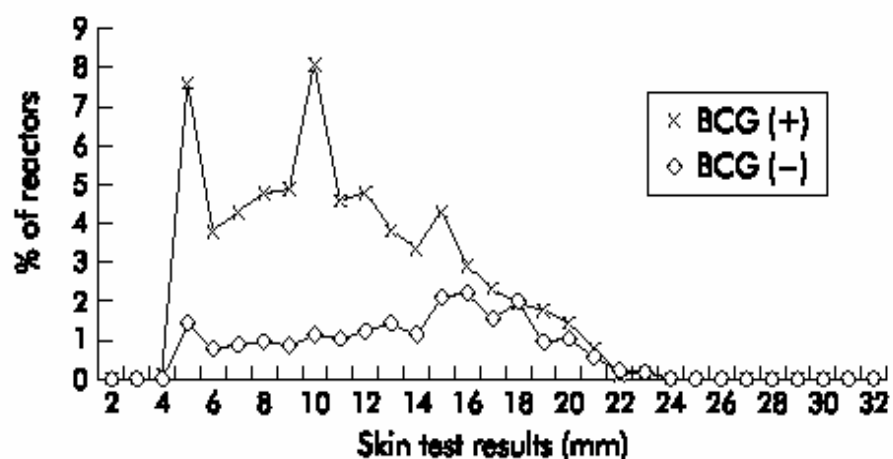
La interpretación de la PT en vacunados es una cuestión controvertida<sup>37,58,59</sup> teniendo en cuenta además, que el posible efecto de la BCG sobre la reactividad de la PT parece no durar mas de 3 o 4 años tras la vacunación<sup>27,37,60,61</sup>. En vacunados el grado de induración debe ser tenido en cuenta a la hora de establecer el diagnóstico correcto y el tratamiento de una ITBL<sup>27,42</sup> valorando siempre previamente los factores de riesgo de infección<sup>27,42</sup>.

Algunos autores consideran que no se debe tener en cuenta el antecedente de vacunación BCG a la hora de interpretar la PT por el riesgo de no tratar verdaderas ITBL<sup>54,62-69</sup> y porque el porcentaje de Mantoux positivo en niños inmigrantes o procedentes de adopción internacional vacunados y con cicatriz es muy pequeño<sup>56</sup>. Sin embargo otros estudios demuestran no solo un mayor porcentaje de resultados positivos de la PT en población vacunada, sino que observan como el efecto de la BCG sobre el resultado de la PT puede durar más de 3 o 4 años tras la vacunación<sup>42,43,54,55,70,71</sup>, señalando incluso la necesidad de establecer puntos de corte de la PT según el tiempo transcurrido tras la administración de la BCG<sup>60,71</sup>. La SEIP establece que induraciones iguales o superiores a 15 mm en los niños vacunados en los últimos 3 años siempre serán consideradas positivas y las menores a 10 mm negativas<sup>27</sup>. El problema surge en la valoración de niños vacunados con reacciones intermedias (entre 11 y 14 mm). En estos casos se recomienda individualizar la lectura del Mantoux en función de criterios clínicos y/o epidemiológicos, obviando el posible efecto de la BCG ante situaciones de riesgo. En niños inmigrantes y procedentes de adopción internacional en los cuales no suele estar suficientemente documentado su

verdadero antecedente de vacunación y dado el riesgo de TB por proceder de zonas de alta endemia, debemos interpretar como positivos aquellos Mantoux con induraciones iguales o superiores a 10 mm<sup>72</sup>.

Chadha y cols. apuntan que un porcentaje de las induraciones menores de 19 mm observadas en vacunados pueden ser atribuidas a la BCG<sup>54</sup>. Un metanálisis de 56 trabajos prospectivos concluye que un porcentaje de las induraciones inferiores a 16 mm pueden deberse a la BCG<sup>42</sup>, incluso en lactantes vacunados durante los primeros meses de vida<sup>42</sup> o en periodo neonatal<sup>60,71</sup> (Figura 11). Este porcentaje es aun mayor en los vacunados después de los primeros meses de vida<sup>42</sup>. Este mismo metanálisis observa como este efecto de la BCG sobre la reactividad del Mantoux desaparece después de 15 años tras vacunación<sup>42</sup>.

La variabilidad de los resultados observados en los distintos estudios puede deberse a la influencia de los diversos factores comentados anteriormente (edad de vacunación, tipo, dosis y administración de vacuna, intervalo entre vacunación y PT...) incluso del tipo y dosis de tuberculina administrada<sup>42,69</sup>. Por todo ello, la interpretación de la PT en niños procedentes de países con vacunación obligatoria con BCG sigue siendo una cuestión controvertida.



**Figura 11.** Porcentaje de pacientes no vacunados y vacunados con BCG hace más de 5 años con respuesta a la prueba de tuberculina en función de sus milímetros de induración<sup>42</sup>.

## **1.6. INFECCIÓN POR MICOBACTERIAS AMBIENTALES Y PRUEBA DE TUBERCULINA**

En países con baja prevalencia de TB las micobacterias atípicas son una causa importante de falsos positivos de la PT<sup>37,73-76</sup>. Diversos estudios demuestran como un porcentaje importante de infecciones por estas micobacterias en niños inmunocompetentes pueden producir induraciones superiores a 10 mm, incluso superiores a 15 mm<sup>74,76-78</sup>, dando lugar en ocasiones a tratamientos antituberculosos inadecuados. Esto se debe a la aparición de reacciones cruzadas entre el derivado proteico purificado 23RU de la tuberculina y los antígenos de otras micobacterias, debiendo ser por tanto cautos a la hora de interpretar el Mantoux en estos niños<sup>79</sup>. Sin embargo, la diferenciación de este tipo de infecciones de la TB es fundamental ya que el manejo terapéutico es radicalmente distinto<sup>76</sup>. El incremento de casos de enfermedad por micobacterias atípicas en niños en países industrializados ha dado lugar a la necesidad de implantar nuevas técnicas diagnósticas distintas del Mantoux que nos discriminen estas micobacterias del *MTB*, para evitar un sobrediagnóstico de ETB y un manejo inadecuado de estas infecciones<sup>73,80</sup>.

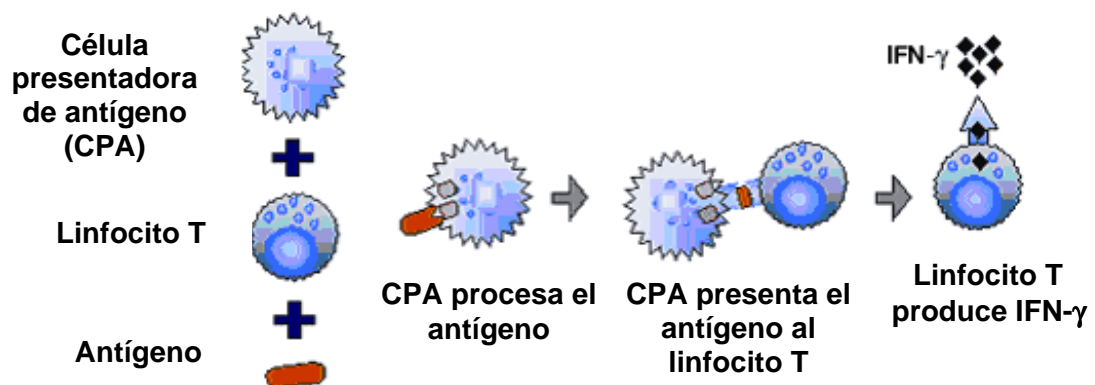
## **1.7. NUEVOS MÉTODOS DE INMUNODIAGNÓSTICO. “INTERFERON GAMMA RELEASE ASSAYS (IGRAS)”.**

La PT ha sido hasta el momento, y a pesar de las limitaciones anteriormente descritas, el único método para identificar la infección tuberculosa latente, y una herramienta básica en el diagnóstico y en la investigación epidemiológica. Sin embargo con frecuencia nos enfrentamos a numerosos problemas a la hora de establecer un diagnóstico correcto de la ITBL y la ETB utilizando la PT y los métodos diagnósticos disponibles en la actualidad. Esto ha originado la necesidad de desarrollar nuevas pruebas más específicas y sensibles, que permitan una interpretación objetiva de sus resultados.

Inicialmente se investigaron técnicas de inmunodiagnóstico basadas en la producción de anticuerpos frente al *MTB*<sup>81</sup>. Sin embargo, se comenzó a observar como los anticuerpos producidos iban dirigidos frente a un amplio número de antígenos y el grado de respuesta variaba de manera importante entre individuos, siendo decepcionantes los resultados de sensibilidad de estos estudios serológicos<sup>81,82</sup>.

Posteriormente, y dado que el *MTB* es un patógeno intracelular, se considera que el estudio de la respuesta inmunitaria de los linfocitos T de pacientes infectados podría constituir una alternativa para la elaboración de nuevos tests diagnósticos basados en los fenómenos inmunológicos que suceden tras la infección tuberculosa<sup>81</sup>.

Al llegar el *MTB* a los alvéolos pulmonares, se produce la fagocitosis del mismo por los macrófagos, los cuales liberan citocinas que atraen a neutrófilos, linfocitos y más macrófagos. Los linfocitos T CD4 específicos se transforman en linfocitos Th1 bajo la influencia de la IL-12 secretada por los macrófagos. Los linfocitos Th1 segregan factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) que activa a los macrófagos infectados. Los macrófagos a su vez sintetizan IL-12 que estimula a las células *Natural Killer* que también sintetizan IFN- $\gamma$ . Por todo ello, la citocina efectora clave en el control de la infección micobacteriana mediante la activación de los macrófagos y también en el desarrollo de la inmunidad protectora contra el *MTB* es el IFN- $\gamma$ <sup>83,84</sup> (Figura 12).



**Figura 12.** Producción de interferón-gamma por linfocitos T tras entrar en contacto con el *Mycobacterium tuberculosis*.



Sin embargo, para la elaboración de tests diagnósticos eficaces es preciso conocer aquellos antígenos del *MTB* que son capaces de producir una respuesta linfocitaria evidente en sujetos infectados, realizándose múltiples intentos para encontrarlos<sup>85</sup>. Estos antígenos deben ser codificados por regiones del genoma del *MTB* que se encuentren ausentes en el bacilo de Calmette Guérin (BCG) y en otras micobacterias ofreciendo la oportunidad de desarrollar técnicas más específicas que la PT<sup>86,87</sup>.

La primera evidencia de la existencia de un antígeno específico de *MTB* es descrita en 1986 por Harboe y cols., los cuales observan como el antígeno MPT64 está presente en *M.bovis* y *MTB* pero no en el BCG<sup>88</sup> (Tabla 2). Sin embargo, este antígeno induce una pobre-moderada respuesta de linfocitos en pacientes con ETB, presentando tan solo el 6% de los enfermos respuesta a su administración intradérmica<sup>89,90</sup>.

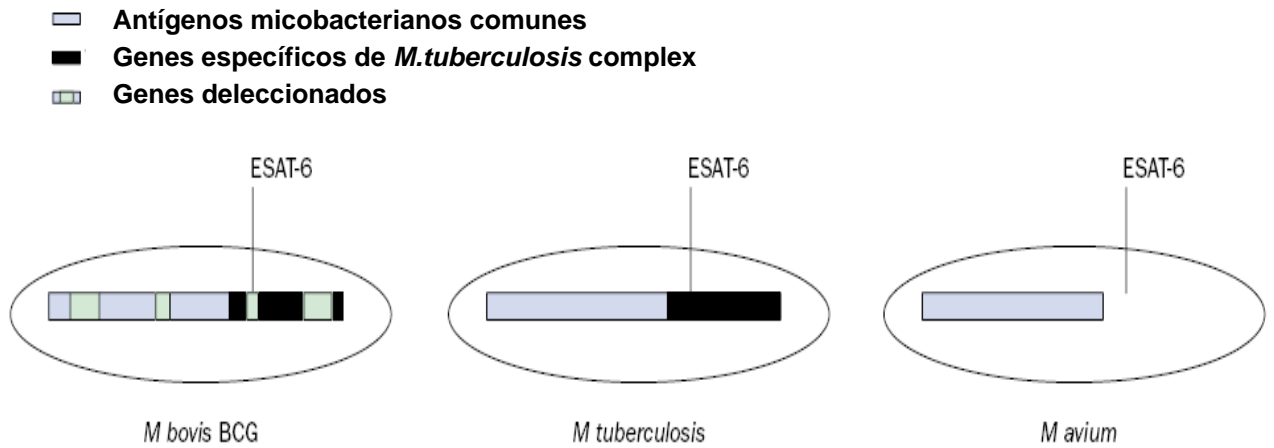
En 1995 se identifica el antígeno de 6kD *ESAT-6* (*Early Secretory Antigen Target-6*) en animales infectados por *MTB*<sup>91</sup>, comprobándose su ausencia en todas las cepas de BCG y de micobacterias ambientales a excepción de *M.kansasii*, *M.marinum* y *M.szulga*<sup>81</sup> (Tabla 2 y Figuras 13 y 14). En 1998 se identifica otro antígeno, la proteína presente en los filtrados de cultivos, *CFP-10* (*Culture Filtrate Protein 10*), que está codificado al igual que *ESAT-6* en la región genómica RD1 de *MTB*. El *CFP-10* se encuentra en las mismas especies micobacterianas que el *ESAT-6*<sup>92</sup> (Tabla 2). La importancia de estos dos nuevos antígenos en el diagnóstico de la TB radica en que solo *M.kansasii* puede causar enfermedad similar a la TB<sup>81</sup>, siendo una micobacteria aislada muy infrecuentemente, constituyendo aproximadamente el 0,5% de los aislamientos de las micobacterias ambientales<sup>81</sup>.

Al analizar el papel del antígeno *ESAT-6* en la respuesta inmune de individuos enfermos de TB se observa como entre el 60 y el 80% de los mismos responden, estimulándose la producción de IFN- $\gamma$  por parte de los linfocitos T, mientras que la respuesta en individuos sanos está ausente<sup>89,93-95</sup>. Posteriormente

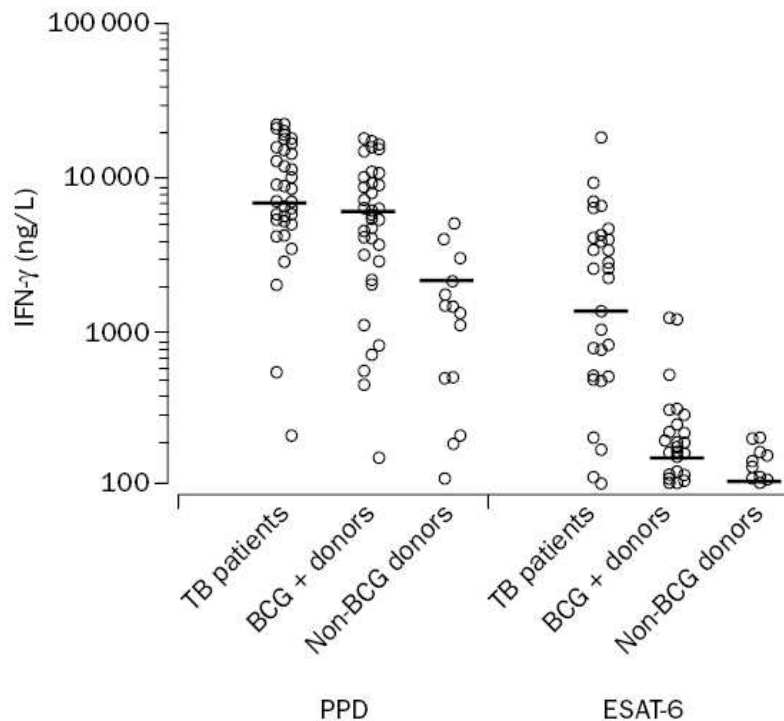
se comprobó como la combinación de ESAT-6 con CFP-10 aumenta aún más la sensibilidad de la prueba para detectar activación linfocitaria en pacientes enfermos<sup>96</sup>.

**Tabla 2.** Presencia de ESAT-6, CFP-10 y MPT64 en las diversas especies de micobacterias<sup>81</sup>.

Especies de micobacteria	ESAT-6	CFP 10	MPT 64
<b><i>M. tuberculosis</i> complex</b>			
<i>M tuberculosis</i>	+	+	+
<i>M africanum</i>	+	+	+
<i>M bovis</i>	+	+	+
BCG substrain			
gothenburg	-	-	+
moreau	-	-	+
tice	-	-	+
tokyo	-	-	+
danish	-	-	-
glaxo	-	-	-
montreal	-	-	-
pasteur	-	-	-
<b>Micobacterias ambientales</b>			
<i>M abcessus</i>	-	-	-
<i>M avium</i>	-	-	-
<i>M branderi</i>	-	-	-
<i>M celatum</i>	-	-	-
<i>M chelonae</i>	-	-	-
<i>M fortuitum</i>	-	-	-
<i>M gordonii</i>	-	-	-
<i>M intracellulare</i>	-	-	-
<i>M kansasii</i>	+	+	-
<i>M malmoense</i>	-	-	-
<i>M marinum</i>	+	+	-
<i>M oenavense</i>	-	-	-
<i>M scrofulaceum</i>	-	-	-
<i>M smegmatis</i>	-	-	-
<i>M szulgai</i>	+	+	-
<i>M terrae</i>	-	-	-
<i>M vaccae</i>	-	-	-
<i>M xenopi</i>	-	-	-

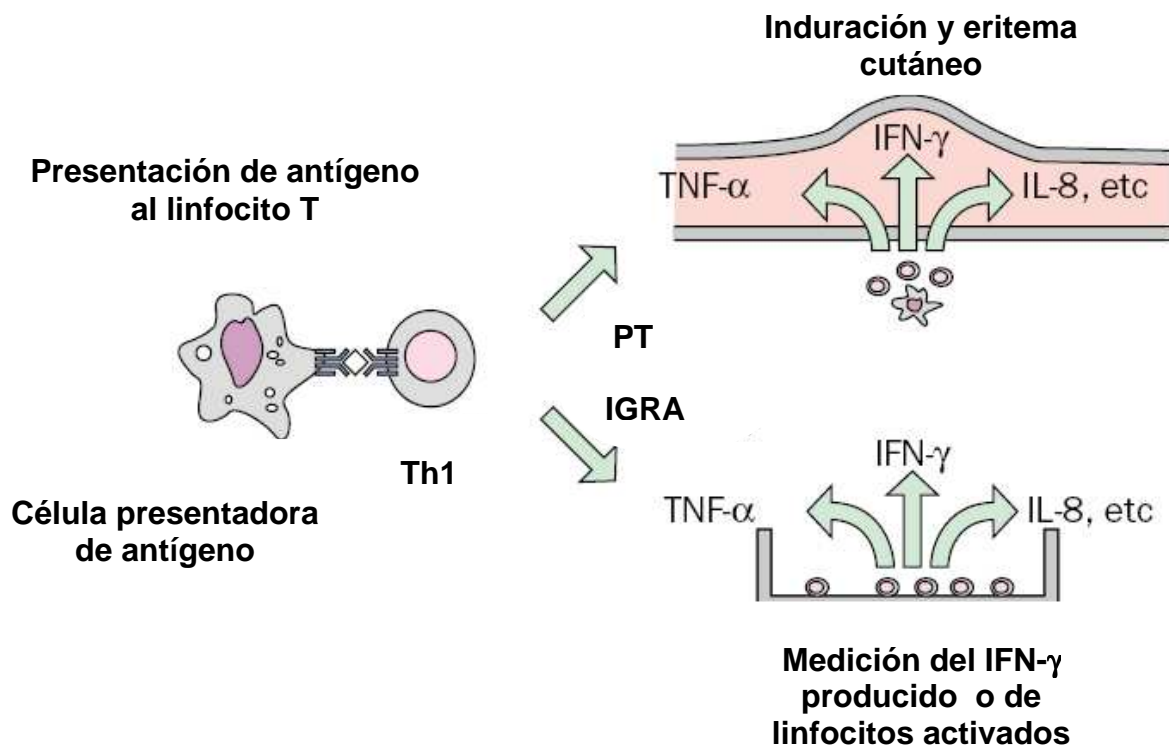


**Figura 13.** Esquema de la composición genética de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* y del bacilo de Calmette-Guerin en función de la presencia o ausencia de *Early Secretory Antigen Target-6*<sup>81</sup>.



**Figura 14.** Cantidad de interferón-gamma producido tras estimular los linfocitos T con PPD o con *ESAT-6* en pacientes con enfermedad tuberculosa, en vacunados con BCG y en no vacunados con BCG<sup>81</sup>.

A partir de los primeros ensayos se desarrollaron dos métodos principales de cuantificación de esta respuesta inmune celular utilizando antígenos micobacterianos para la estimulación de las células T sensibilizadas y la detección *in vitro* de la liberación de IFN- $\gamma$ <sup>33</sup>. Estas nuevas técnicas se basan fundamentalmente en métodos de enzimo-inmunoensayo (EIA) y de enzimo-inmunospot (ELISPOT), y han dado lugar a dos pruebas disponibles comercialmente preparados para medir la cantidad de IFN- $\gamma$  (*QuantiFERON-TB Gold Test In tube*®; Cellestis, Victoria, Australia) o el número de células que lo producen (*T-SPOT.TB*®; Immunotec, Oxford, United Kingdom). Ambas consisten en la estimulación *in vitro* de los linfocitos T con antígenos micobacterianos (*ESAT-6* y *CFP-10*), seguida de una detección del IFN- $\gamma$  producido o del número de linfocitos estimulados que lo producen (*Figura 15*). Las células T detectadas por las técnicas *in vitro* corresponden a células efectoras que han entrado en contacto recientemente con el antígeno y que liberan IFN- $\gamma$  cuando se exponen nuevamente al mismo<sup>33</sup>.



**Figura 15.** Mecanismos inmunológicos desencadenados tras la administración de la prueba de tuberculina y en la realización de "Interferon gamma release assays"<sup>81</sup>

El éxito de las pruebas radica entre otros factores en emplear en la estimulación estos antígenos específicos codificados en la región RD1 del genoma de *MTB* y ausentes en el BCG, en *M.bovis* y en la mayor parte de las micobacterias ambientales como se comentó con anterioridad<sup>97</sup> (Tabla 3). Parece por tanto que estos nuevos métodos tendrían una gran capacidad de detectar individuos infectados realmente por *MTB*, sin presentar los hipotéticos resultados falsos positivos que podemos encontrar con la PT en pacientes vacunados con BCG o infectados por otras micobacterias<sup>98,99</sup>.

Estas pruebas requieren determinar la producción de IFN- $\gamma$  o la activación de linfocitos en tres situaciones concretas: Tras exponer el plasma a los antígenos micobacterianos, a heparina (control negativo) y a fitohemaglutinina, estimulador inespecífico de activación linfocitaria en condiciones normales (control positivo o mitógeno)<sup>33,100</sup>.

Uno de los beneficios de estas pruebas es que, al realizarse una estimulación “*in vitro*” de los linfocitos y no “*in vivo*” como es el caso de la PT, no se produce efecto Booster, ya que cada nueva determinación se realiza con nuevo plasma extraído al paciente y no expuesto previamente en el laboratorio a los antígenos (Tabla 3). Además los resultados están disponibles en 24 horas, no requiriendo que el paciente acuda en varias ocasiones como sucede con la PT, y la interpretación de los mismos no es subjetiva<sup>33</sup> (Tabla 3).

Diversos estudios señalan como los resultados positivos de las pruebas parecen reflejar infecciones recientes<sup>101</sup> que son aquellas que con más probabilidad pueden evolucionar a enfermedad y que además, la determinación de IFN- $\gamma$  o de linfocitos activados podría tener un papel en monitorizar la respuesta al tratamiento<sup>102,103</sup> observándose su utilidad como indicador de riesgo de progresión a ETB en pacientes expuestos<sup>104,105</sup>.

En estudios de contactos se intuye que estas técnicas se correlacionan mejor que la PT con el grado de exposición al *MTB* y que además la vacunación con BCG no interfiere en el resultado<sup>26,33,106-108</sup>.

*Utilidad Diagnóstica del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en la Infección Tuberculosa Latente y en la Enfermedad Tuberculosa en Edad Pediátrica.*  
 Ana M<sup>a</sup> Méndez Echevarría

Es importante señalar que, dado que son pruebas basadas en la activación linfocitaria, su utilidad en pacientes inmunodeprimidos es limitada, a pesar de que la mayor parte de los estudios señalan mejor sensibilidad de estos tests respecto a la PT en este colectivo<sup>109-113</sup>. Además, no debemos olvidar que los niños pequeños presentan una peor respuesta inmunitaria ante el *MTB* que condiciona en gran medida su mayor susceptibilidad a evolucionar a ETB tras la primoinfección y a padecer formas diseminadas<sup>84</sup>. Este peor funcionamiento inmune condiciona también la aparición de falsos negativos de la PT en recién nacidos<sup>27</sup>, existiendo poca evidencia de la posible influencia de la edad en los resultados del *QuantiFERON-TB Gold Test In tube*® (QTF) en el momento en el cuál iniciamos nuestro estudio<sup>100</sup>. La introducción de un control positivo o mitógeno (fitohemaglutinina) dentro de la rutina del laboratorio permite detectar aquellos pacientes cuyos linfocitos no se activan normalmente, informando el resultado como indeterminado por escasa activación linfocitaria<sup>81</sup>. De esta manera, podemos diferenciar los resultados verdaderamente negativos de los no interpretables o indeterminados por probable inmunodepresión, situación que no es posible con la PT.

**Tabla 3.** Diferencias entre la prueba de tuberculina y el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube*®<sup>97</sup>.

	PT	QTF
Antígenos	PPD	ESAT-6 y CFP-10
Reactividad cruzada con BCG	SI	NO
Reactividad cruzada con otras micobacterias	SI	Improbable
Sensibilidad en adultos inmunocompetentes	75-90 %	75-90 %
Especificidad en adultos inmunocompetentes	70-95 %	90-100%
Efecto Booster	SI	NO
Discriminación Infección/Enfermedad	NO	NO
Nº visitas requeridas	2	1

A pesar de todas estas aparentes ventajas, debemos señalar que su coste es muy superior al de la PT (20-30 € frente a 0,5-1 €), y que requieren para su determinación la disponibilidad de un laboratorio con personal cualificado<sup>33</sup>. Sin embargo algunos estudios demuestran como, la utilización de estos tests solos o en

combinación con la PT presenta mejor coste-beneficio que la utilización exclusiva de la PT, la cuál resulta en una sobreestimación de casos que precisan estudio y tratamiento, con aumento final del gasto<sup>114,115</sup>. No debemos olvidar igualmente que aún están por dilucidar las indicaciones concretas y su papel en la práctica clínica diaria, especialmente en menores de 17 años y gestantes<sup>100</sup>.

El CDC (*Centers for Disease Control*) advierte también como un resultado negativo de estas pruebas en presencia de síntomas sugestivos de ETB nunca excluye el diagnóstico de la enfermedad<sup>100</sup>.

## **1.8. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO DE TESIS DOCTORAL**

*QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* (QTF) y *T-SPOT.TB®* (TSPOT) constituyen el mayor avance en el diagnóstico de la ITBL de las últimas décadas.

En el año 2005, la FDA (*USA Food and Drug Administration*) aprobó el uso del QTF como método diagnóstico de ITBL y de ETB<sup>100</sup>. Sin embargo, esta prueba diagnóstica no había sido estudiada en profundidad en niños y las guías del CDC publicadas en Diciembre del año 2005 advertían sobre la ausencia de datos en menores de 17 años y señalaban la necesidad de realizar estudios en niños, especialmente en menores de 5 años<sup>100</sup>.

La realización de estudios de validación de tests de diagnósticos como el QTF como prueba para detectar ITBL es compleja ya que se ve obstaculizada por la ausencia de pruebas de confirmación que diagnostiquen ITBL con una especificidad del 100%, no disponiendo actualmente de ningún “*Gold Standard*” con el cuál podamos comparar sus resultados<sup>33</sup>.

Cuando se planteó el inicio de este trabajo de tesis doctoral, comenzaban a aparecer los primeros estudios en adultos que mostraban resultados alentadores, con mejoría de la sensibilidad en comparación con la PT<sup>116</sup> y especialmente de la especificidad en pacientes vacunados<sup>33,98,117,118</sup>. Además, algún estudio en adultos vacunados con BCG clasificados en función de su riesgo de padecer TB,

comprobó como el QTF resultaba mejor indicador del riesgo de infección que la PT<sup>118</sup>.

En 2007 aparece el primer metanálisis de 83 estudios publicados hasta el momento demostrando que la sensibilidad de las pruebas es similar a la que presenta la PT (aunque algo superior para TSPOT que para QTF), mejorando de manera significativa la especificidad en vacunados y estimándose una especificidad del 97% para QTF y del 92,5 % para TSPOT. Sin embargo señala la ausencia de evidencia en niños, inmunodeprimidos y ancianos<sup>119</sup>.

Los primeros estudios en niños publicados por Dogra y Conell en India y Australia comparan el QTF con la PT como prueba diagnóstica de ITBL<sup>120,121</sup> pero encuentran resultados contradictorios, observando el primero buena correlación entre ambas pruebas (*kappa* 0,73) con bajo porcentaje de resultados indeterminados<sup>121</sup> y el segundo escasa correlación (*kappa* 0,3) con alto porcentaje de resultados indeterminados del QTF<sup>120,122</sup> (Tabla 4).

**Tabla 4.** Comparación de los 2 primeros artículos publicados sobre *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* en niños<sup>120,121</sup>.

ESTUDIO	Dogra y cols.	Connell y cols.
<b>Participantes</b>	N = 105 Niños hospitalizados por sospecha o contacto TB	N = 101 Procedentes de zonas de riesgo Sospecha o contacto con TB
<b>BCG previa</b>	82 %	49%
<b>Mantoux (+)</b>	9.5%	49%
<b>QTF</b>		
-Resultados indeterminados	0%	17%
-Resultados (+)	10,5%	20%
<b>Resultados discordantes</b>		
PT (+) / QTF (-)	5	26
PT (-) / QTF (+)	2	26
	3	0
<b>Correlación entre ambos tests</b>	Buena ( <i>Kappa</i> 0,7)	Pobre ( <i>Kappa</i> 0,3)



Muchos autores comenzaban a señalar que los resultados positivos del QTF se asociaban significativamente con una mayor edad de los niños, e incluso observaban un mayor número de resultados indeterminados en niños pequeños<sup>33,122,123</sup>. Estos fenómenos pudieran deberse a que los lactantes presentan de manera fisiológica una menor producción de IFN- $\gamma$  ante diversos estímulos en comparación con los niños mayores y los adultos<sup>124</sup>. Sin embargo, esto es solo una hipótesis y se señala la necesidad de ser confirmada con estudios más amplios.

A pesar de este hecho, algún estudio observa que comparativamente con la PT estos tests diagnósticos son algo más sensibles en niños pequeños, y también en niños malnutridos e inmunodeprimidos<sup>102,113,121</sup>.

El aumento progresivo de los niños inmigrantes procedentes de zonas endémicas de TB que además habitualmente han recibido BCG en su país de origen y las dificultades diagnósticas a las cuales los pediatras nos enfrentamos en nuestra práctica clínica diaria, son un importante problema no resuelto. La aparición de estas nuevas herramientas diagnósticas y su escasa evidencia en población pediátrica, nos decidió a principios del año 2007 a la realización de esta tesis doctoral, con el fin de comprobar las hipótesis y cumplir los objetivos que se exponen en el siguiente capítulo.

## **CAPÍTULO 2**

### ***HIPÓTESIS Y OBJETIVOS***

---

---

## HIPÓTESIS

Nos planteamos comprobar las siguientes hipótesis:

1. Se ha descrito que la vacunación con BCG induce resultados falsos positivos de la prueba de tuberculina en los niños vacunados y éstos por tanto, pueden presentar con mayor frecuencia resultados positivos del Mantoux en comparación con los no vacunados. El *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* podría permitirnos detectar estos resultados falsos positivos.
2. Estudios realizados en población adulta han demostrado que el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* es más específico que la prueba de tuberculina como método diagnóstico de infección tuberculosa latente siendo al menos igual de sensible. Nuestra hipótesis de trabajo es comprobar que al igual que en adultos, esta prueba es más específica en niños, especialmente en vacunados con BCG, en los cuales la concordancia entre la prueba de tuberculina y el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* será menor que en los no vacunados.
3. Basándonos en la hipótesis anterior, un resultado positivo del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* indicaría una verdadera infección y por tanto, esta prueba será mejor predictor del riesgo de padecer infección por *M.tuberculosis* que la prueba de tuberculina.
4. La edad puede influir en el resultado del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*, dado que los lactantes de manera fisiológica producen menores niveles de interferón-gamma ante diversos estímulos. Esta prueba puede presentar por tanto mayor porcentaje de resultados indeterminados en niños pequeños.

5. El estado nutricional puede influir en los resultados del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*, al igual que sucede en la prueba de tuberculina, al condicionar un cierto grado de inmunodepresión. Esta prueba puede presentar por tanto mayor porcentaje de resultados indeterminados en niños mal nutridos.
  
6. Las infecciones activas pueden influir en los resultados del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*, al igual que sucede en la prueba de tuberculina. Esta prueba puede presentar por tanto mayor porcentaje de resultados indeterminados en niños que sufren infecciones virales, bacterianas o parasitarias activas.

## **OBJETIVOS**

### **- PRINCIPALES**

1. Comparar la utilidad de dos pruebas diagnósticas, el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* y la prueba de tuberculina, para el diagnóstico de la infección tuberculosa latente y la enfermedad tuberculosa en niños inmunocompetentes menores de 15 años.
2. Comparar los resultados de la prueba de tuberculina y los obtenidos mediante el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* en población vacunada y no vacunada con BCG.

### **- SECUNDARIOS**

1. Determinar la sensibilidad y especificidad del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* analizando los resultados obtenidos en población no infectada y con enfermedad tuberculosa.
2. Comprobar si la edad, la situación nutricional o la presencia de infecciones bacterianas, virales o parasitarias activas influyen en la capacidad de producir interferón-gamma ante estímulos inespecíficos y ante antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* y por tanto, pudiesen modificar el resultado del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.
3. Determinar si el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* discrimina entre infección tuberculosa latente y enfermedad tuberculosa.
4. Utilizando el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* como "Gold Standard" analizar la sensibilidad y la especificidad de la prueba de tuberculina según las recomendaciones para su interpretación de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica.

## **CAPÍTULO 3**

### ***DISEÑO, PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS***

---

---

### **3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO**

Estudio transversal y multicéntrico cuyo objetivo principal fue analizar la utilidad del QTF en el diagnóstico de la ITBL y de la ETB en niños, así como comparar esta prueba diagnóstica con la PT. Se incluyeron niños inmunocompetentes menores de 15 años que presentaban riesgo de infección o de ETB (*apartado 3.3.1. “Pacientes. Criterios de Inclusión”*). La inclusión de pacientes se inició en Marzo del 2007, finalizando en Octubre del 2008 (duración del periodo de inclusión: 20 meses). El procesamiento de todas las muestras del QTF así como la obtención de todos los datos de los pacientes incluidos (resultados de pruebas de imagen, estudios anatomopatológicos, cultivos para *MTB*, estudios epidemiológicos de contactos...) finalizó en Febrero del 2009. El estudio ha podido ser realizado gracias a la financiación obtenida mediante la 19<sup>a</sup> Beca Dodot-Ausonia 2007 de Investigación Pediátrica concedida por la Asociación Española de Pediatría.

En todos los pacientes incluidos en el estudio se realizaron dos pruebas diagnósticas inmunológicas de TB (PT y QTF), con el fin de valorar comparativamente sus resultados. Se elaboró un formulario diseñado específicamente para este estudio (*Anexo 1*), donde se registraron las principales variables a analizar. Se recogieron los datos referentes al país de procedencia del niño, así como su edad, sexo, peso y talla, y el motivo de la consulta inicial (*apartado 3.3.1. “Pacientes. Criterios de Inclusión”*: Grupo de riesgo: 1. Niños adoptados e inmigrantes sin contacto con TB, 2. Niños con contacto con TB y 3. Niños con sospecha clínica de TB). Para valoración del estado nutricional se aplicó el índice nutricional de McLaren (IN) <sup>125</sup>:

$$\frac{\text{Peso real} \times \text{Talla real}}{\text{Percentil 50 de peso para la edad} \times \text{Percentil 50 de talla para la edad}} \times 100$$

Se consideró que presentaban un estado nutricional adecuado los niños con IN igual o superior al 90%, desnutrición leve si su IN oscilaba entre 80 y 89%, y moderada-severa si su IN era igual o inferior al 79%<sup>125</sup>.

También se recogió el diagnóstico final del paciente (sano, ITBL o ETB), y se anotaron tanto el resultado de la PT, especificando los milímetros de la induración transversal, como los antecedentes personales respecto a la vacunación BCG: Si los padres o tutores del paciente referían que el menor había recibido alguna dosis, si se aportaba cartilla de vacunación válida según los criterios de la Academia Americana de Pediatría y del Comité Asesor de vacunas del CDC<sup>126,127</sup>, en la que constara alguna dosis de BCG, y si existía cicatriz de vacuna en zona deltoidea. A la hora de analizar la influencia de la vacunación BCG sobre el resultado de ambas pruebas, se consideró como vacunados aquellos niños que presentaban cicatriz postvacunal en zona deltoidea y procedían de países en los cuales la BCG estuviera incluida en calendario vacunal<sup>37,41</sup>.

Dado que el QTF es un procedimiento diagnóstico basado en la respuesta inmunitaria del paciente, concretamente en la actividad de los linfocitos T tras estimulación antigénica, y como otras infecciones activas distintas de la TB son capaces de ocasionar falsos negativos en la intradermorreacción de Mantoux<sup>27</sup>, con objeto de detectar estos eventuales resultados falsos negativos se detallaron en este mismo anexo la presencia de infecciones bacterianas, víricas o parasitarias activas. Para ello en los pacientes que presentaron sintomatología sugestiva de infección vírica o bacteriana en el momento de la extracción del QTF y de la realización de la PT, se efectuaron las siguientes pruebas complementarias: hemograma, bioquímica, reactantes de fase aguda y tira reactiva de orina. Ante sospecha de infección bacteriana se recogieron además hemocultivos y urocultivos. Otras pruebas diagnósticas que se han realizado de manera individualizada en cada paciente según sospecha clínica, han sido estudios serológicos, detección de antígenos virales, radiografías de tórax, punciones lumbares... En todos los pacientes procedentes de zona endémica de malaria se realizó gota gruesa. En todos los niños inmigrantes o procedentes de adopción



internacional se recogieron 3 muestras de heces en días alternos para estudio parasitario.

El *Anexo 2* fue diseñado para detallar todos los datos correspondientes a la exposición a TB, sintomatología clínica presentada, y pruebas diagnósticas encaminadas a diferenciar ITBL de ETB.

Previamente a la inclusión en el estudio, se hizo entrega a los padres y/o tutores de los pacientes de un documento con información referente al mismo (*Anexo 3*), y se solicitó su autorización mediante la firma del oportuno consentimiento (*Anexo 4*). Por otra parte, dado que la dirección de la investigación ha sido realizada desde el Hospital Carlos III de Madrid, se procedió a la aprobación inicial por parte del Comité de Ética y Ensayos Clínicos de dicho Centro (*Anexo 5*). Después fue aprobado por los distintos Comités Éticos y de Investigación Clínica de cada Hospital colaborador, a los que se remitió copia del consentimiento del Comité de Ética y Ensayos clínicos del Hospital Carlos III, el documento de compromiso de la responsable de la investigación (*Anexo 6*), y carta de la misma dirigida a cada Comité (*Anexo 7*).

### **3.2. CENTROS PARTICIPANTES Y COLABORADORES**

En este estudio multicéntrico han participado 9 Hospitales públicos de la Comunidad Autónoma de Madrid (*Anexo 8*). Tras la aceptación del Servicio de Pediatría y/o de la Unidad de Enfermedades Infecciosas Pediátricas de cada Centro se designaron los pediatras colaboradores de los respectivos hospitales, responsables de iniciar la selección de los pacientes que cumplían los criterios de inclusión, interpretación de la PT, cumplimentar los anexos y canalizar la recogida de muestras para la realización del QTF. La responsable y doctoranda, Ana Méndez Echevarría seleccionó y supervisó directamente todos los pacientes.

Los Centros y médicos participantes, con sus respectivos Servicios de adscripción, direcciones, teléfonos de contacto y nº de pacientes incluidos en cada Centro figuran en el *Anexo 8*.

### **3.3. PACIENTES**

#### **3.3.1. Criterios de inclusión.**

El tamaño final de la muestra seleccionada ha sido de 459 niños menores de 15 años (*Capítulo 4: Resultados*). Según el motivo de consulta se dividieron en 3 grupos:

➤ **GRUPO 1: CRIBADO DE INFECCIÓN TUBERCULOSA EN INMIGRANTES Y NIÑOS PROCEDENTES DE ADOPCIÓN INTERNACIONAL (Riesgo Leve de TB)**

Niños inmigrantes o procedentes de adopción internacional originarios de **áreas con alta endemia** de TB, llegados a España en los últimos 2 años<sup>128</sup>, que acudieron al Hospital Carlos III para realización de **examen de salud sin referir contacto aparente** con enfermos tuberculosos.

➤ **GRUPO 2: ESTUDIO POR CONTACTO CON TB (Riesgo Moderado de TB)**  
Niños que acudieron al Hospital Carlos III y al Hospital La Paz para estudio **por contacto con enfermo tuberculoso**.

➤ **GRUPO 3: SOSPECHA DE ENFERMEDAD TUBERCULOSA (Riesgo Elevado de TB)**

Niños estudiados en 9 Hospitales de la Comunidad de Madrid **por sospecha clínica de enfermedad tuberculosa**.

Tras el estudio inicial los pacientes se clasificaron según su diagnóstico final en:

1. **SANOS.** Pacientes asintomáticos con PT negativa según los criterios de la SEIP<sup>27</sup>.
2. **INFECCIÓN TUBERCULOSA LATENTE.** Pacientes con PT positiva según los criterios de la SEIP<sup>27</sup> sin sintomatología, con radiografía de tórax y/o TC de tórax normal.
3. **NIÑOS ENFERMOS DE TB.** Se incluyeron aquellos pacientes que cumplían alguno de los siguientes criterios:
  - Niños con cultivo positivo, diagnosticados de ETB con confirmación microbiológica por crecimiento de *MTB* en medio sólido (*Lowenstein*) o líquido (*Middlebrook*).
  - Niños con reacción en cadena de la polimerasa (PCR) positiva, diagnosticados de ETB con estudios moleculares de PCR positivos para *MTB* en muestras biológicas (líquido cefalorraquídeo, jugo gástrico, biopsias de distintas localizaciones... ).
  - Niños con baciloscopia positiva, diagnosticados de ETB sin aislamiento de *MTB*, en cuyas muestras biológicas (líquido cefalorraquídeo, jugo gástrico, biopsias de distintas localizaciones...) examinadas por visión directa mediante fluorescencia con auramina o tinción de *Ziehl-Neelsen* se observaron bacilos ácido alcohol resistentes. Se excluyeron las linfadenitis cervicales sin afectación pulmonar, para evitar incluir infecciones por micobacterias no tuberculosas.
  - Niños diagnosticados de ETB sin confirmación microbiológica mediante cultivo, baciloscopia o PCR, pero que cumplan con todos los criterios siguientes:
    1. Presencia de sintomatología compatible con ETB. Se excluyeron las formas ganglionares cervicales sin afectación pulmonar, para evitar incluir infecciones por otras micobacterias.

2. Mantoux  $\geq$  5 mm.
3. Contacto con enfermo tuberculoso.
4. Uno de los siguientes criterios:
  - Estudio radiológico en radiografía de tórax y/o TC torácico compatible con ETB: (a) Complejo primario; (b) Adenopatías mediastínicas o hiliares, con o sin infiltrado; (c) Caverna.
  - Estudios de neuroimagen sugestivos de meningoencefalitis tuberculosa (captación leptomeníngea, lesiones compatibles con granulomas, aracnoiditis, hidrocefalia...).
  - Estudio anatomopatológico que confirma la presencia de granulomas caseificantes con sospecha de etiología tuberculosa.
  - Estudios citoquímicos sugestivos de ETB: elevación de ADA, hipoglucorraquia, proteinorraquia, elevación de VSG...

### **3.3.2. Criterios de exclusión.**

Dado que el QTF es un test de inmunodiagnóstico que mide la respuesta linfocitaria ante estímulos antigénicos propios del *MTB*, se decidió excluir a todos aquellos pacientes que asociaran factores o situaciones clínicas potencialmente capaces de deteriorar el funcionamiento del sistema inmunitario. Una vez más debemos señalar que el propósito del estudio fue valorar la utilidad de esta prueba en niños inmunocompetentes. En consecuencia, se excluyeron los pacientes con:

- Infección VIH.
- Inmunodeficiencias congénitas.
- Tratamiento con inmunosupresores o corticoides durante las 4 semanas previas a la inclusión.
- Enfermedades autoinmunes.
- Leucemias, linfomas y otros procesos proliferativos malignos.
- Insuficiencia renal crónica.
- Insuficiencia hepática crónica.
- Trasplante de órgano sólido
- Trasplante de médula ósea.

Diversos trabajos han observado cómo la producción de IFN- $\gamma$  tras la estimulación antigénica con antígenos específicos de *MTB* puede incrementarse inicialmente durante los 10 días después del comienzo del tratamiento con fármacos antituberculosos y, que disminuye posteriormente a lo largo del mismo<sup>103,129</sup>. Incluso, algunos autores proponen su posible utilidad en la monitorización de la respuesta terapéutica<sup>129</sup>. Por este motivo, y para evitar sesgos, también se han excluido:

- Pacientes que ya han realizado en algún momento profilaxis secundaria o tratamiento antituberculoso por diagnóstico de ITBL o ETB.
- Pacientes que hayan iniciado tratamiento o profilaxis anti-tuberculosa cuya duración excediera de 3 días en el momento de la realización del QTF. Sin embargo, sí se incluyeron aquellos pacientes que a pesar de haber recibido profilaxis desarrollaron una ETB, por considerarse un fracaso de la profilaxis primaria o secundaria. En estos niños la obtención de muestras para el análisis del QTF siempre se realizó después de suspender la profilaxis en monoterapia con isoniacida, y antes de la instauración del tratamiento en politerapia para ETB.
- Finalmente, también se excluyeron aquellos casos cuyos datos o Anexos resultaron incompletamente recogidos o cumplimentados (23 casos).

### **3.3.3. Identificación de los pacientes y confidencialidad de sus datos.**

Los pacientes incluidos se identificaron mediante un *Número* asignado según su orden de inclusión (1,2,3...), precedido por el *Código* identificador de cada Centro (*Anexo 9*). *Código* y *Número* figuraron en todas las hojas de recogida de datos, así como en las etiquetas de identificación colocadas en los tubos de extracción para el QTF y elaboradas con el fin de reconocer las muestras sin necesidad de utilizar otros datos de los pacientes, preservando así la confidencialidad de los niños incluidos.

### 3.4. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.4.1. Realización de la prueba de la tuberculina.

La tuberculina fue aplicada en la cara anterior del antebrazo en dirección longitudinal al brazo, mediante inyección intradérmica de 0,1 mL del PPD, que contiene 2UI de PPD-RT23 (equivalente a 5UI de PPD-S), utilizando una aguja calibre 26 con bisel corto girado hacia arriba<sup>27</sup>. La lectura del Mantoux se realizó a las 72 horas por una única persona experimentada en cada Centro participante, midiendo la induración máxima del diámetro transversal al eje mayor del antebrazo. La respuesta fue valorada según los criterios de lectura del Mantoux propuestos por la SEIP<sup>27</sup> (Tabla 5). En los niños asintomáticos, que no refieran contacto con ETB y que presenten cicatriz de BCG se consideraron positivas induraciones superiores o iguales a 10 mm<sup>27</sup>, independientemente del tiempo transcurrido desde la vacunación.

**Tabla 5.** Interpretación de la prueba de tuberculina en niños. Documento de consenso de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica<sup>27</sup>.

SE CONSIDERA PRUEBA DE TUBERCULINA POSITIVA:
1) Una induración $\geq$ 5mm en: <ul style="list-style-type: none"><li>• Niños en contacto íntimo con caso índice o sospechoso de ETB.</li><li>• Niños sospechosos de ETB clínica o radiológica.</li><li>• Niños en situaciones de inmunodepresión o infección por VIH.</li><li>• Niños con conversión de Mantoux previamente negativo.</li></ul>
2) Una induración $\geq$ 10mm en: Cualquier otro caso, incluidos los niños inmigrantes y el cribado de niños sanos.
3) Niños que han recibido vacuna BCG hace menos de tres años: <ul style="list-style-type: none"><li>• Induración <math>&lt;</math>10mm se considerará un efecto postvacunal.</li><li>• Induración <math>\geq</math>15mm siempre se considera positiva.</li><li>• Induración entre 10-14 mm: <b>individualizar</b> teniendo en cuenta que el efecto de la BCG sobre la reacción del Mantoux no se prolonga más allá de 3 años y la positividad del mismo por la BCG no suele exceder de los 10mm.</li></ul> <p style="text-align: center;"><b>En situaciones de riesgo de desarrollar enfermedad tuberculosa, debe obviarse el antecedente de BCG.</b></p>

### **3.4.2. Realización del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®.**

La determinación del QTF se realizó en el Servicio de Inmunología del Hospital Carlos III de Madrid, siendo todas las muestras procesadas por un único inmunólogo para evitar variabilidad en la obtención de resultados. El método implica la elaboración de dos procesos<sup>100</sup>: El primero consiste en la incubación de la sangre, los antígenos *Early Secretory Antigen Target-6 (ESAT-6)* y *Culture Filtrate Protein 10 (CFP-10)* específicos de *MTB*. Tras la incubación, se determina el IFN- $\gamma$  plasmático producido mediante dicha estimulación.

El método requiere que se realicen dos controles de ensayo<sup>100</sup>. Una alícuota de la muestra problema se incuba con heparina sin antígenos (control negativo, basal o nil). El control negativo o basal indica los valores basales de IFN- $\gamma$  en el plasma del paciente, sirviendo para detectar situaciones excepcionales en las cuales, por alguna causa, se presenten niveles basales elevados de IFN- $\gamma$  en plasma, evitando así la aparición de resultados falsos positivos. Más importante es la realización de un control positivo o mitógeno, que consiste en incubar otra alícuota con fitohemaglutinina, potente estimulador de los linfocitos T. Este control positivo indicará si por cualquier motivo, la muestra no es capaz de activarse por una respuesta pobre de los linfocitos T ante un estímulo inespecífico. Evita así la aparición de resultados falsos negativos y además nos informa de la escasa respuesta linfocitaria del paciente. Esta situación es más frecuente, y fundamentalmente se ha descrito en pacientes inmunodeprimidos e infectados por el VIH.

Tanto el defecto de activación de los linfocitos en el control positivo o mitógeno, como el exceso de producción de IFN- $\gamma$  en el control negativo o basal, tienen como consecuencia la aparición de resultados ***indeterminados o no valorables***.

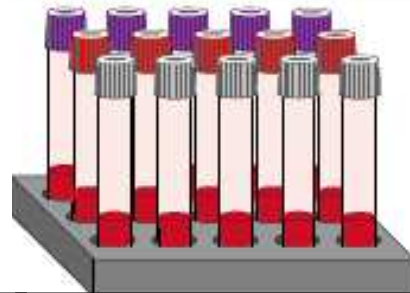
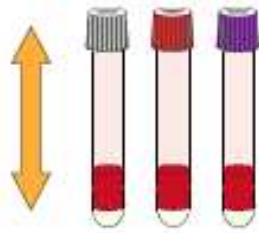
De esta manera, los resultados obtenidos pueden agruparse en cuatro tipologías diferentes:

- 1) QTF positivo.
- 2) QTF negativo.
- 3) QTF indeterminado por exceso de producción basal de IFN- $\gamma$ .
- 4) QTF indeterminado por ausencia de activación linfocitaria.

La extracción de la sangre heparinizada, que ha de alcanzar un volumen mínimo de 3 mL, se realiza directamente en tres tubos (un mínimo de 1 mL por tubo), conteniendo uno de ellos los antígenos micobacterianos, otro el mitógeno, y el último únicamente heparina. Tras incubación de la muestra a 37°C durante 16-24 horas, se centrifugan los tubos y se recoge el plasma, el cuál se almacena a -70°C hasta el momento de la cuantificación del IFN- $\gamma$ <sup>103</sup> (Figura 16).

El método utilizado para la determinación de dicha citoquina es un ELISA tipo sandwich realizado en microplaca. Los pocillos de la microplaca están impregnados de un anticuerpo específico anti-IFN- $\gamma$ , que capturará la citoquina plasmática. Para detectar el IFN- $\gamma$  capturado se utiliza un anticuerpo secundario específico conjugado con peroxidasa, y añadiendo un substrato cromogénico de la misma se identifica la presencia de la citoquina, con una intensidad del color (medido en absorbancias) directamente proporcional a los niveles de IFN- $\gamma$  de la muestra. Para su cuantificación se realiza una curva de concentración con un estándar de IFN- $\gamma$ <sup>100</sup>. En la interpretación de los resultados se han tenido en cuenta los valores de IFN- $\gamma$  basales, así como los obtenidos con el mitógeno y con los antígenos<sup>103</sup> (Tabla 6).

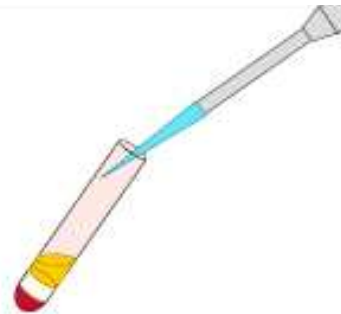
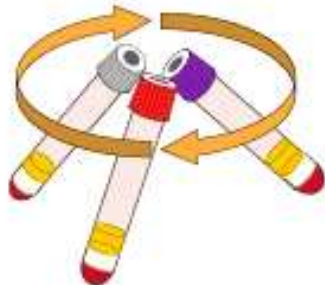




**1. Extracción de 1 mL por tubo**  
 Cada tubo tiene un contenido distinto:

- Nil o Heparina / Control positivo
- Mitógeno / Control negativo
- Antígenos *ESAT6 / CFP10*

**2. Tras su extracción, la sangre se incuba a 37 °C durante 16-24 horas**



**3. La sangre se centrifuga 15 minutos**

**4. Extracción de 200 µL de plasma por tubo. Se almacena a -70°C hasta su análisis.**

**Figura 16.** Proceso de obtención del suero problema y de estimulación linfocitaria con antígenos previo a la determinación del interferón-gamma.

**Tabla 6.** Interpretación de los resultados obtenidos mediante el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube*®<sup>100</sup>.

IFN- $\gamma$ con ESAT-6 / CFP-10	IFN- $\gamma$ con HEPARINA CONTROL (-)	IFN- $\gamma$ con MITÓGENO CONTROL (+)	RESULTADO	INTERPRETACIÓN
$\geq 0,35$ UI/mL y $> 50\%$ del IFN- $\gamma$ de la heparina	Cualquier valor	Cualquier valor	<b>+</b>	Infección por <i>MTB</i>
$< 0,35$ UI/mL	$\leq 0,7$	$\geq 0,5$	<b>-</b>	Improbable infección por <i>MTB</i> aunque no excluida
$< 0,35$ UI/mL	Cualquier valor	$< 0,5$	<b>Indeterminado</b>	Baja producción de IFN- $\gamma$ en condiciones fisiológicas
$\leq 50\%$ del IFN- $\gamma$ de la heparina	$>0,7$	Cualquier valor	<b>Indeterminado</b>	Alta producción de IFN- $\gamma$ sin estimulación antigénica

#### Envío y procesamiento de las muestras

Todas las determinaciones del QTF se realizaron en el Servicio de Inmunología del Hospital Carlos III de Madrid por un único inmunólogo. La sangre extraída necesaria para dicha determinación llegó al laboratorio dentro de las primeras 3 horas después de su extracción, para iniciar el proceso de incubación a 37°C junto con los antígenos micobacterianos. Para conseguir este objetivo, se puso en marcha un sistema de mensajería que recogió las muestras el mismo día de su extracción en el Hospital de origen, transportándolas a temperatura ambiente

en menos de 3 horas al laboratorio. Antes de la extracción de las muestras se solicitaron y obtuvieron los correspondientes consentimientos informados firmados por los padres o tutores, garantizando su debida autorización para proceder a la utilización de las mismas. A su vez y simultáneamente, el colaborador de cada Centro contactaba con la investigadora responsable del estudio para coordinar la recogida de los envíos, garantizando después de la extracción el procesamiento de las muestras a la mayor brevedad.

#### Recogida de los datos

Los colaboradores de los distintos hospitales también se han responsabilizado de cumplimentar los anexos con los datos de cada paciente, reuniéndose mensualmente en el Hospital Carlos III (primer lunes de cada mes) con la responsable del estudio para entregar y revisar dicha documentación.

Trimestralmente el inmunólogo del Hospital Carlos III comunica a la responsable y doctoranda (Ana Méndez Echevarría) los resultados de la determinación de producción de IFN- $\gamma$  en sangre tras estimulación con antígenos de *MTB*. Ella misma elaboró una base de datos común conteniendo los detalles clínicos y analíticos de los pacientes, garantizando una lectura e interpretación de los resultados objetiva, dado que el laboratorio careció de acceso a los datos clínicos desconociendo en todo momento si la muestra pertenecía a un niño sano, infectado o enfermo de TB. Igualmente, los médicos de cada Centro desconocieron los resultados del laboratorio antes de establecer el diagnóstico de los pacientes. En todo momento se ha respetado la confidencialidad de la muestra y se han seguidos las normas en vigor de protección de datos de los “biobancos”.

#### **3.4.3. Método estadístico.**

Los datos se han analizado en la Sección de Bioestadística del Hospital Universitario La Paz de Madrid con el programa SPSS 9.0 (SPSS Inc.). La descripción de los datos cualitativos se expresa en forma de frecuencias absolutas y

porcentajes, y los datos cuantitativos mediante media y desviación típica, o mediana y rango según sea la distribución de los datos.

La relación entre variables cualitativas se estudió mediante el test chi-cuadrado o test exacto de *Fisher*, y la distribución de variables cuantitativas entre grupos se analizó mediante el test t de *Student* para muestras independientes o el test U de *Mann Whitney* según la distribución de los casos.

Para analizar la asociación entre variables cuantitativas se utilizó el coeficiente de correlación de *Spearman* y el estudio de la concordancia entre técnicas se hizo a partir del coeficiente *Kappa*, el test de *McNemar* y los intervalos de confianza del 95%. Para evaluar la capacidad predictiva de la induración y de la cantidad de IFN- $\gamma$  producida en los distintos subgrupos se calculó el área bajo la curva ROC y se evaluó la sensibilidad y especificidad de las pruebas.

Todas las pruebas estadísticas se han considerado bilaterales, y como valores significativos aquellos con  $p < 0.05$ .

#### **3.4.4. Método de búsqueda para la identificación de la bibliografía.**

Antes de realizar el análisis y discusión de los resultados obtenidos se practicó una búsqueda bibliográfica sistemática de artículos publicados hasta el momento referentes a estos nuevos métodos de inmunodiagnóstico (*QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* y *T-SPOT.TB®*) en niños, en bases de datos MEDLINE vía PubMed (*U.S. National Library of Medicine and the National Institutes of Health*). Se utilizó la siguiente estrategia de búsqueda: "Tuberculosis AND diagnosis AND (child OR children) AND (Quantiferon OR Quantiferon-tb gold OR QTF-G OR QTF OR QTF-IT OR IGRA OR IGRAS OR interferon-gamma release assay OR interferon-gamma release assays OR ELISPOT OR TSPOT)", revisándose un total de 110 artículos.

## **CAPÍTULO 4**

### **RESULTADOS**

---

---

## 4.1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA

### 4.1.1. Datos generales.

Se incluyen 459 niños, 264 niñas (57,5%) y 195 niños (42,4%). La edad media de la población incluida es  $4,73 \pm 3,68$  años (Rango; 1 mes-15 años). En 318 niños se descartó la ITBL y la ETB (el 69,2% de la muestra), 73 casos fueron diagnosticados de ITBL (el 15,9% de la muestra) y 68 de ETB (el 14,8% de la muestra) (Figura 17).

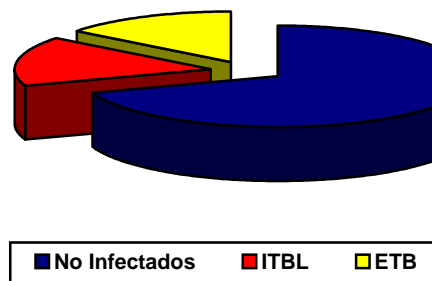


Figura 17. Diagnóstico final de los pacientes de nuestra serie.

Encontramos 242 niños procedentes de adopción internacional (52,7%), 154 inmigrantes (33,5%) y 63 españoles (13,7%). El 72% de los niños diagnosticados finalmente de ETB fueron inmigrantes (49/68), encontrando solo 19 casos de ETB en niños españoles (27,9%).

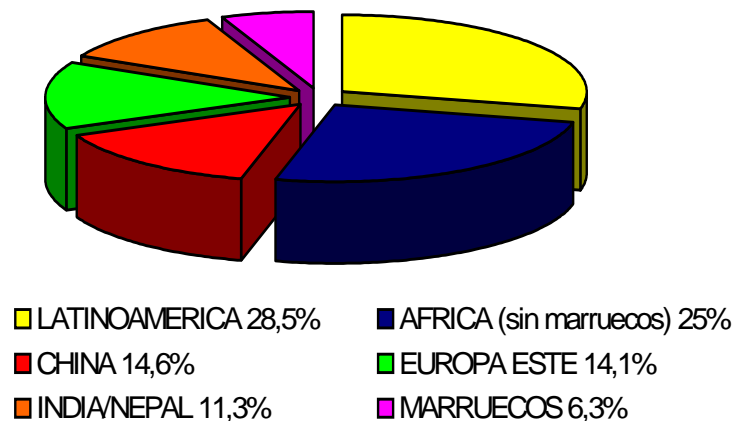
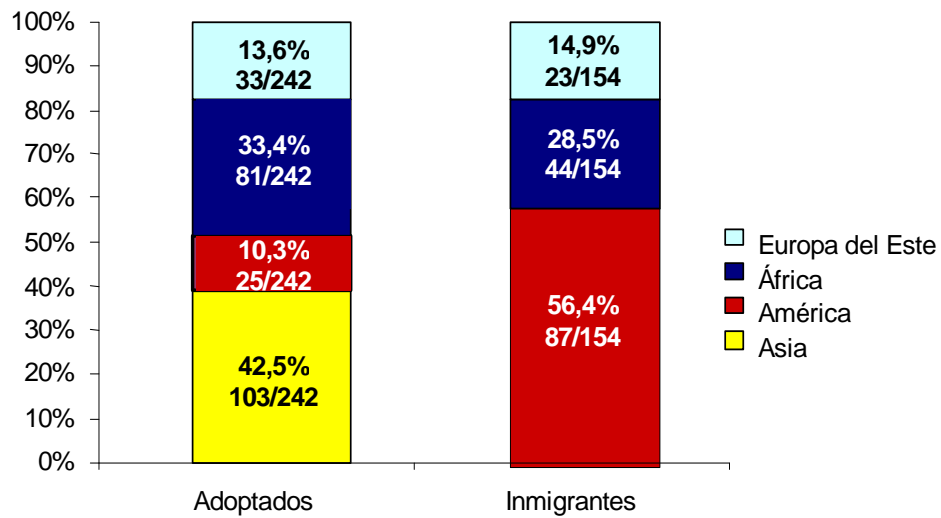


Figura 18. Zonas de procedencia de los niños inmigrantes y adoptados.

**Tabla 7.** Países de procedencia de los niños inmigrantes y adoptados.

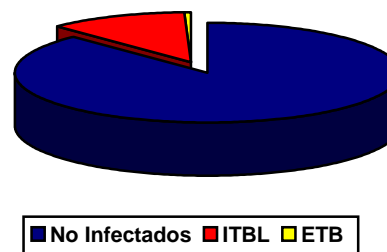
<b>PAIS</b>	<b>n</b>	<b>Adoptados por país (n y %)</b>	<b>Total de la muestra (%)</b>
ARGENTINA	5	0 (0%)	1,2%
<b><u>BOLIVIA</u></b>	16	5 (31%)	<b><u>4%</u></b>
BRASIL	8	3 (37%)	2%
BULGARIA	7	4 (57%)	1,7%
CABO VERDE	1	0 (0%)	0,2%
CAMERÚN	2	0 (0%)	0,6%
<b><u>CHINA</u></b>	58	<b><u>58 (100%)</u></b>	<b><u>14,6%</u></b>
<b><u>COLOMBIA</u></b>	19	11 (57%)	<b><u>4,7%</u></b>
CONGO	1	0 (0%)	0,2%
COSTA DE MARFIL	2	2 (100%)	0,6%
CUBA	2	0 (0%)	0,6%
ECUADOR	22	0 (0%)	5,5%
EGIPTO	2	0 (0%)	0,6%
<b><u>ETIOPÍA</u></b>	71	<b><u>71 (100%)</u></b>	<b><u>17,9%</u></b>
GUINEA CONAKRY	3	0 (0%)	0,7%
GUINEA –BISSAU	3	3 (100%)	0,7%
GUNEA ECUATORIAL	8	0 (0%)	2%
<b><u>INDIA</u></b>	18	<b><u>18 (100%)</u></b>	<b><u>4,5%</u></b>
KAZAJSTÁN	2	0 (0%)	0,6%
KENIA	1	0 (0%)	0,2%
<b><u>MARRUECOS</u></b>	25	5 (20%)	<b><u>6,3%</u></b>
MÉXICO	4	4 (100%)	1%
<b><u>NEPAL</u></b>	27	<b><u>27 (100%)</u></b>	<b><u>6,8%</u></b>
NICARAGUA	1	1 (100%)	0,2%
NIGERIA	1	0 (0%)	0,2%
PANAMA	1	0 (0%)	0,2%
PARAGUAY	3	0 (0%)	0,7%
<b><u>PERU</u></b>	16	1 (6%)	<b><u>4%</u></b>
POLONIA	6	3 (50%)	1,5%
REP. DOMINICANA	11	0 (0%)	2,7%
RUANDA	1	0 (0%)	0,2%
<b><u>RUMANIA</u></b>	13	0 (0%)	<b><u>3,2%</u></b>
<b><u>RUSIA</u></b>	17	<b><u>17 (100%)</u></b>	<b><u>4,2%</u></b>
SENEGAL	3	0 (0%)	0,7%
UCRANIA	11	9 (81%)	2,7%
URUGUAY	1	0 (0%)	0,2%
VENEZUELA	4	0 (0%)	1%



**Figura 19.** Lugar de origen de los niños adoptados e inmigrantes.

Según el motivo de consulta inicial se clasificaron los niños en tres grupos:

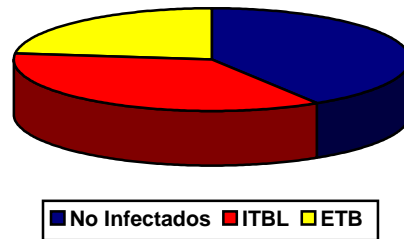
- Grupo 1. Cribado de ITBL en niños inmigrantes y adoptados procedentes de zona de alta endemia de TB (Riesgo Leve de TB): Se incluyen **318 niños (69,2% de la muestra)**, 194 mujeres (61%) y 124 varones (38,9%). Su edad media fue  $4,33 \pm 3,31$  años (Rango; 4 meses-15 años). En 279 casos (87,7%) se descartó la ITBL y la ETB, 37 fueron diagnosticados de ITBL (11,6%) y 2 menores presentaron ETB (0,6%) (*Figura 20*).



**Figura 20.** Diagnóstico final de los pacientes del Grupo 1.

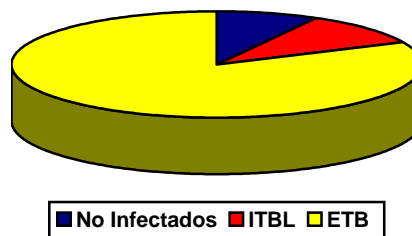


- Grupo 2. Estudio por contacto con TB (Riesgo Moderado de TB): Se incluyen **83 niños (18% de la muestra)**, 37 niñas (44,5%) y 46 niños (55,4%). Su edad media fue  $5,89 \pm 4,43$  años (Rango: 1 mes -15 años). En 34 casos (40,9%) se descartó la ITBL y la ETB, 30 fueron diagnosticado de ITBL (36,1%) y 19 niños (22,8%) presentaron ETB (Figura 21).



**Figura 21.** Diagnóstico final de los pacientes del Grupo 2.

- Grupo 3. Sospecha de enfermedad tuberculosa (Riesgo Elevado de TB): Se incluyen **58 niños (12,6% de la muestra)**, 33 niñas (56,8%) y 25 niños (43,1%), con edad media de  $5,24 \pm 4$  años (Rango: 3 meses -15 años). El 81% de estos pacientes presentaban ETB (47/58), el 10,3% fueron diagnosticados finalmente de ITBL (6/58), y en el 8,6% (5/58) se descartó la presencia de ITBL o ETB (Figura 22).



**Figura 22.** Diagnóstico final de los pacientes del Grupo 3.

En este Grupo 3 encontramos por tanto 11 niños sin ETB incluidos por sospecha inicial de ETB. El diagnóstico final de los mismos fue el siguiente:

- 1 Bronconeumonía de características virales.
- 1 Neumonía por *Mycoplasma pneumoniae* con exposición a *MTB*.
- 2 Meningoencefalitis de características víricas  
(Una de ellas por Virus *Herpes Simple I*).
- 1 Osteomielitis bacteriana crónica por *Streptococcus pyogenes*.
- 1 Neumonía bacteriana con ITBL.
- 1 Bronconeumonía de características virales con ITBL.
- 1 Neumonía por *Mycoplasma pneumoniae* con ITBL.
- 1 Osteomielitis por *Staphylococcus aureus* con ITBL.
- 1 Meningoencefalitis de características víricas con ITBL.
- 1 Síndrome febril autolimitado con ITBL.

#### **4.1.2. Características de los enfermos tuberculosos.**

Se diagnostican 68 casos de ETB. Las características de los mismos se recogen en la Tabla 8. Los niños diagnosticados de ETB son significativamente de menor edad que los niños con ITBL [Edad media de niños con ETB =  $4,9 \pm 4,1$  años; Edad media de niños con ITBL =  $6,7 \pm 4,2$  años] ( $p=0,015$ ).

**Tabla 8.** Características clínicas de los enfermos tuberculosos en nuestra serie.

<b>Formas clínicas</b>	94,1% ETB Pulmonar (64/68)
	2,9% Meningoencefalitis (2/68)
	2,9% ETB ósea (2/68) - 1 Enfermedad de Pott - 1 ETB mastoidea
<b>Exposición a adulto enfermo:</b>	64,7% (44/68):
<b>Contacto estrecho familiar</b>	- 90,9% (40/44)
<b>Contacto con bacilífero</b>	- 84% (37/44)
<b>Confirmación microbiológica</b>	54,4% (37/68)
<b>Resultado positivo del Mantoux</b>	98% (67/68)
<b>Resultado positivo del QTF</b>	98% (61/62) (6 indeterminados)
<b>Induración media del Mantoux</b>	15,3 ± 5 mm
<b>Vacunación BCG</b>	10,2% (7/68)
<b>Coinfecciones</b>	4,4% (3/68) - 1 Varicela - 1 <i>Giardia lamblia</i> - 1 Malaria con parasitación mixta <i>Plasmodium falciparum/ovale</i>

#### 4.1.3. Estudio del estado nutricional.

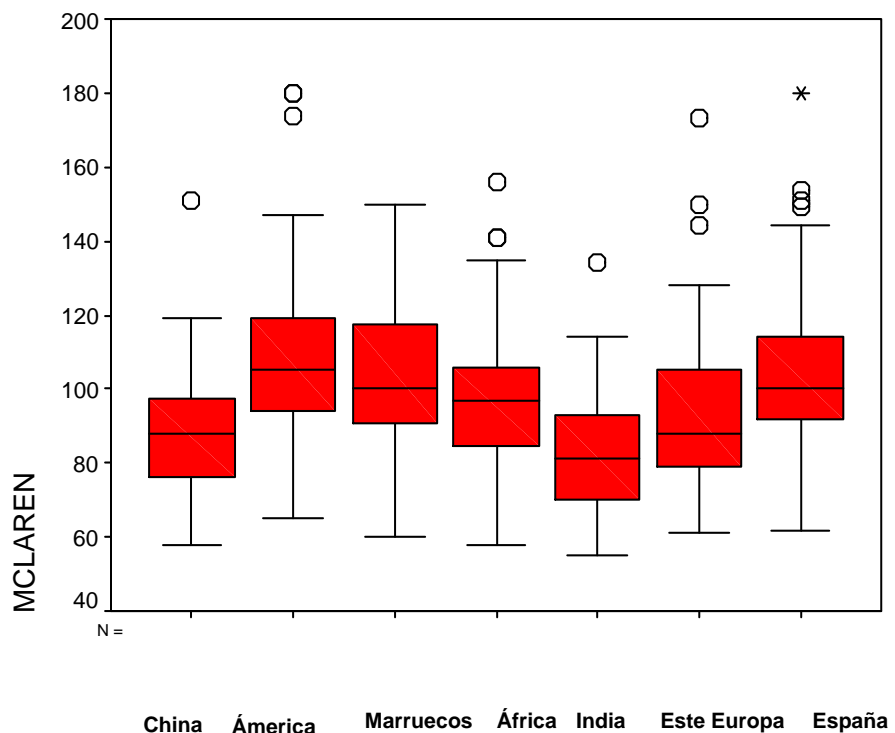
El índice nutricional de McLaren (IN) se realizó en el 94,5% de los pacientes (434/459), debido a que en 25 casos no se recogió el peso o la talla en el momento de la inclusión, coincidente con la extracción del QTF. El IN medio fue del 98±21%.

El 35,9% de los pacientes (156/434) presentaba un IN menor del 90%, observándose en el 18,2% de la muestra (79/434) desnutrición moderada-severa con un  $IN \leq 79\%$ .

Los niños peor nutridos ( $IN < 90\%$ ) procedieron de India (16/18; 88,8%), China (36/58; 62%) y Europa del Este (32/56; 57,1%) (Figura 23). El IN mínimo observado fue del 55%.

El 15,8% de los casos (69/434) presentó un IN mayor del 115%, procediendo el 40,5% de los mismos de América Latina (el 24,7% de los niños originarios de estos países presentaron un  $IN > 115\%$ ; 28/113). El IN máximo observado fue del 180%.

Los niños adoptados mostraron desnutrición ( $IN 91 \pm 17\%$ ) con mayor frecuencia que los inmigrantes ( $IN 107 \pm 22\%$ ) ( $p=0,004$ ) (Figura 24).



**Figura 23.** Índice nutricional según la zona de procedencia.

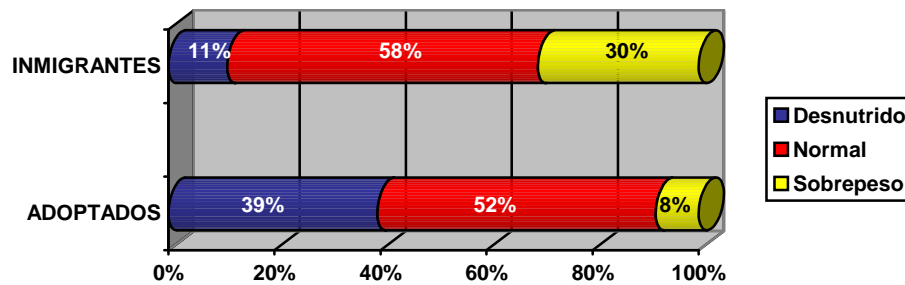


Figura 24. Estado nutricional de los niños inmigrantes y adoptados.

#### 4.1.4. Situación clínica.

En el momento de la inclusión 161 niños presentaban algún tipo de infección parasitaria, viral y/o bacteriana activa (el 35% de la muestra). En 105 niños de los 396 inmigrantes o adoptados se detectó algún tipo de parásito intestinal en la muestra de heces (26,5%), siendo patógeno en el 91,4% de las ocasiones (96/105). En el 40,9% de los niños parasitados existía en las heces más de una variedad parasitaria (43/105). En dos niños se constató malaria con parasitación mixta por *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium ovale*.

Tabla 9. Parásitos intestinales patógenos más frecuentemente aislados.

Tipo de parásito intestinal	Nº de muestras con aislamiento
<i>Giardia lamblia</i>	62
<i>Entamoeba histolytica</i>	18
<i>Ascaris lumbricoides</i>	14
<i>Trichuris trichura</i>	12
<i>Hymenolepis nana</i>	10
<i>Strongyloides stercoralis</i>	4
<i>Uncinaria</i>	1

Observamos 54 niños del total de la muestra que presentaban infecciones virales agudas activas (11,7%) (Tabla 10), 17 infecciones bacterianas (3,7%) (Tabla 11), y 12 micosis cutáneas (2,6%). La infección viral más frecuente obedeció al virus de la hepatitis A (42/54), siendo diagnosticada por la presencia de IgM positiva en el estudio serológico (NOTA: en el formulario no se recogieron las situaciones de infección crónica por otros virus hepatotropos = VHB / VHC).

**Tabla 10.** Coinfecciones virales agudas encontradas en nuestra serie.

Infección viral aguda	Nº de casos
Hepatitis por virus A	42
Infección por <i>Citomegalovirus</i>	2
Infección respiratoria con linfocitosis	2
Encefalitis por <i>Herpes simple</i>	1
Infección por virus <i>Parainfluenzae</i>	1
Gastroenteritis por <i>Rotavirus</i>	1
Varicela	3
Fiebre, exantema y linfocitosis	1
Encefalitis linfocitaria	1
<b>Total</b>	<b>54</b>

**Tabla 11.** Coinfecciones bacterianas encontradas en nuestra serie.

Infección bacteriana activa	Nº de casos
Escarlatina	3
Infección respiratoria por <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2
Infección urinaria por <i>Escherichia coli</i>	7
Otitis media por <i>Pseudomona aeruginosa</i>	1
Otitis media supurada	1
Osteomielitis aguda por <i>Staphylococcus aureus</i>	1
Neumonía de características bacteriana	1
Osteomielitis por <i>Streptococcus pyogenes</i>	1
<b>Total</b>	<b>17</b>

#### 4.1.5. Vacunación con BCG.

Como se describe en la literatura, la valoración del estado real de vacunación con BCG es una labor compleja, ya que hasta 215 de los 396 niños inmigrantes o adoptados incluidos no aportaban cartilla de vacunación (54,2%). Incluso cuando aportaban documento de vacunación, en múltiples ocasiones no reflejaba el tipo de vacuna, la fecha de administración ni la firma o sello del sanitario de la Institución responsable, requisitos fundamentales para que el documento sea considerado como válido<sup>126,127</sup>. Los niños adoptados aportaron de manera estadísticamente significativa más cartillas de vacunación que los inmigrantes (134/242; 55,3% frente a 47/154; 30,5%), y en ellos se observó con mayor frecuencia cicatriz atribuible a BCG (150/242; 61,9% frente a 63/154; 40,9%) ( $p < 0,01$ ). Es importante destacar que un 18,7% de los niños que aportaban calendario de vacunación válido en el que constaba alguna dosis de BCG no presentaban cicatriz en zona deltoidea (34/181) y, que el 30,6% de los niños sin cartilla presentaba cicatriz en deltoides sugestiva de vacunación BCG (66/215).

Existió por tanto un porcentaje elevado de niños inmigrantes o adoptados (25,2%; 100/396) en los cuales resultó difícil valorar su verdadero estado de vacunación frente a TB, bien por aportar cartilla que certifique BCG sin presentar cicatriz o a la inversa, por mostrar cicatriz sin aportar cartilla (*Tabla 12*).

**Tabla 12.** Presencia de cicatriz y de documento de vacunación válido en niños procedentes de países donde se vacuna con BCG (n=396).

NO CARTILLA con BCG / NO CICATRIZ	149/396 (37,6%)
SI CARTILLA con BCG / SI CICATRIZ	147/396 (37,1%)
NO CARTILLA con BCG / SI CICATRIZ	66/396 (16,6%)
SI CARTILLA con BCG / NO CICATRIZ	34/396 (8,5%)

Si consideramos como vacunados aquellos niños que presentan cicatriz en zona deltoidea, al igual que consideran la mayor parte de autores, observamos cómo la mitad de la población en estudio (46,4% de los niños; 213/459) había recibido alguna dosis de BCG, siendo este hecho más frecuente en la población de menores adoptados (150/242; 61,9%) que en la de inmigrantes (63/154; 40,9%) ( $p < 0,01$ ). No existieron diferencias estadísticamente significativas entre la edad de la población vacunada (edad media  $4,72 \pm 3,89$  años) y de la no vacunada (edad media  $4,73 \pm 3,44$  años) ( $p = 0,5$ ).

**Tabla 13.** Zona de procedencia y porcentaje de vacunación con BCG por zona.

	<b>% Niños con cicatriz de BCG</b>	<b>% Niños con cicatriz y/o cartilla que registra administración de BCG</b>
<b>China</b>	84,4% (49/58)	96% (56/58)
<b>Este de Europa</b>	58,1% (32/55)	72% (40/55)
<b>América Latina</b>	52,6% (59/112)	59% (67/112)
<b>India/Nepal</b>	44,4% (20/45)	62% (28/45)
<b>África (sin Marruecos)</b>	45,5% (46/101)	47,5% (48/101)
<b>Marruecos</b>	28% (7/25)	32% (8/25)
<b>Espanoles</b>	0% (0/63)	0% (0/63)
<b>TOTAL</b>	100 % (n= 459)	

## **4.2. VACUNACIÓN CON BCG Y RESULTADOS DE LA PRUEBA DE TUBERCULINA**

Se estudió el resultado del Mantoux en la población vacunada y en la no vacunada con BCG, con el fin de analizar los probables falsos positivos por vacunación con bacilo de Calmette-Guerin. Para el análisis se excluyeron los pacientes diagnosticados de enfermedad (n=68), en los cuales un resultado positivo de la PT siempre es debido a la ETB y nunca representa un falso positivo



por vacunación con BCG. A su vez, se consideró población vacunada la que presentó cicatriz en zona deltoidea.

Excluyendo a los 68 pacientes diagnosticados de ETB, el 18,6% de la población presenta PT positiva (73/391). Se observa un mayor porcentaje de resultados positivos del Mantoux en población vacunada (44/206; 21,3%) en comparación con la población no vacunada (29/185; 15,6%). Sin embargo esta diferencia no es estadísticamente significativa ( $p=0,15$ ) (Tabla 14).

**Tabla 14.** Resultados del Mantoux en población vacunada y no vacunada con BCG excluyendo los 68 enfermos de tuberculosis (n=391).

VACUNADOS CON BCG		
MANTOUX	NO	SI
<b>POSITIVO</b>	29	44
<b>NEGATIVO</b>	156	162
<i>p=0,15</i>		

Posteriormente se analizaron los milímetros de induración del Mantoux. La población vacunada presentó con mayor frecuencia induraciones intermedias (entre 10 y 14 mm) que la no vacunada, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p<0,01$ ) (Tabla 15).

**Tabla 15.** Induración del Mantoux en nuestra población según vacunación con BCG excluyendo los 68 enfermos de tuberculosis (n=391).

	Induración en mm del Mantoux			
	<5 mm	5-9 mm	10-14 mm	≥15 mm
<b>Sin Vacunar</b>	82,7% (153/185)	3,2% (6/185)	<b>4,3%</b> (8/185)	9,7% (18/185)
<b>Vacunados</b>	77,1% (159/206)	2,9% (6/206)	<b>12,6%</b> (26/206)	7,2% (15/206)
<b>Total (391)</b>	<i>p &lt;0,01</i>			

Sin embargo, al estudiar el porcentaje de resultados positivos del Mantoux según la edad observamos como los menores de 3 años con cicatriz presentan un mayor porcentaje de resultados positivos en comparación con los niños que no presentan cicatriz de BCG ( $p=0,008$ ). Este fenómeno no se observa en los mayores de 3 años ( $p=0,6$ ) (Tabla 16). El riesgo relativo de presentar un resultado positivo del Mantoux es mucho mayor en los menores de 3 años que presentan cicatriz ( $OR=2,5$ ) que en los mayores de 3 años con cicatriz ( $OR=1,1$ ). Esta diferencia es estadísticamente significativa ( $p=0,004$ ).

**Tabla 16.** Resultados de la prueba de tuberculina en función de la edad y de la presencia de cicatriz de BCG.

Niños <u>menores</u> de 3 años	Resultado del Mantoux	
	Negativo	Positivo
Sin Cicatriz	97,3% (74/76)	2,6% (2/76)
Con Cicatriz	85,4% (82/96)	14,5% (14/96)
Total (172)	$p=0,008$	
Niños <u>mayores</u> de 3 años	Resultado del Mantoux	
	Negativo	Positivo
Sin Cicatriz	76,1% (83/109)	23,8% (26/109)
Con Cicatriz	71,8% (79/110)	28,1% (31/110)
Total (219)	$p=0,6$	

#### **4.3. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON EL QUANTIFERON-TB GOLD TEST IN TUBE®**

La realización del QTF en nuestra población ha obtenido 343 resultados negativos, 96 positivos y 20 indeterminados (4,3% del total) (Tabla 17). Todos los resultados indeterminados se producen por falta de activación linfocitaria tras estimulación con el mitógeno.

**Tabla 17.** Resultados del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en los pacientes de nuestra serie en función del diagnóstico final.

	QTF		
	POSITIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
ETB	61	1	6
ITBL	32	38	3
No infectados	3	304	11
TOTAL	96	343	20

#### 4.3.1. Sensibilidad y especificidad.

La valoración de la sensibilidad del QTF así como de otros tests (incluida la PT) para el diagnóstico de ITBL (probabilidad de clasificar correctamente a un individuo con ITBL sin enfermedad activa) es compleja, debido a la ausencia de pruebas diagnósticas confirmatorias de infección latente.

Por ello los metanálisis publicados y las guías de uso del QTF del CDC estiman la sensibilidad de la prueba para el diagnóstico de ITBL extrapolando los resultados obtenidos en ETB (porcentaje de resultados positivos del total de individuos enfermos). La especificidad la calculan observando el porcentaje de resultados negativos entre personas que improbablemente estén infectadas por MTB (asintomáticos con PT negativa)<sup>100,119</sup>. Así en nuestro estudio determinamos la sensibilidad y especificidad del QTF según las recomendaciones de la CDC<sup>100</sup>.

Para la estimación de la sensibilidad y de la especificidad la fórmula matemática no contempla la presencia de resultados indeterminados, por lo que excluimos los mismos en el cálculo.

En nuestra serie la **sensibilidad para el diagnóstico de la ETB** fue:

$$\frac{\text{Resultados (+) del QTF en niños con ETB}}{\text{Resultados (+) y (-) del QTF en niños con ETB}} = \frac{61}{62} = 98,3\%$$

La especificidad del QTF es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano, es decir, la capacidad para detectar a los niños no infectados ni enfermos.

En nuestra serie la **especificidad** fue:

$$\frac{\text{QTF (-) en niños sin ITBL ni ETB (sin síntomas, con PT -)}}{\text{QTF (-) y (+) en niños sin ITBL ni ETB (sin síntomas, con PT -)}} = \frac{304}{307} = 99\%$$

Por tanto, la sensibilidad del QTF para el diagnóstico de la ETB fue del **98,3%** (IC95 94-100%) y la **especificidad** del **99%** (IC95 97-100%).

Sin embargo, si consideramos la **PT como “Gold Standard diagnóstico”** de ITBL la sensibilidad del QTF **para el diagnóstico de la ITBL** en nuestra serie ha sido del **45,7%** (IC95 33-56%).

La **sensibilidad para el diagnóstico de la ITBL considerando PT como Gold Standard** es:

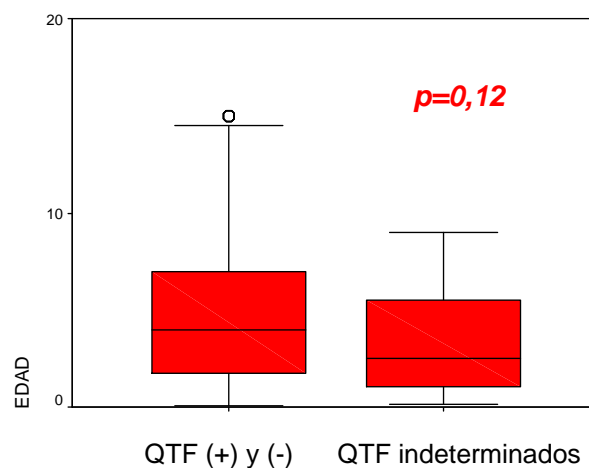
$$\frac{\text{Resultados (+) del QTF en niños con PT (+) asintomáticos}}{\text{Resultados (+) y (-) del QTF en niños con PT (+) asintomáticos}} = \frac{32}{70} = 45,7\%$$

#### **4.3.2. Edad, estado nutricional, coinfecciones y resultados del QuantiFERON-TB-Gold Test In Tube®.**

Tradicionalmente se ha descrito que los lactantes, los niños malnutridos y aquellos con infecciones parasitarias, virales o bacterianas activas suelen presentar con mayor frecuencia resultados falsos negativos de la PT. Ello es

atribuible a un peor funcionamiento linfocitario con escasa activación y producción de citoquinas (IFN- $\gamma$ ), no desencadenándose completamente la cascada inflamatoria necesaria para producir una induración medible. Es probable por tanto, que ante la realización de un QTF en estos casos se obtengan resultados indeterminados por escasa producción de IFN- $\gamma$  en el control positivo o mitógeno.

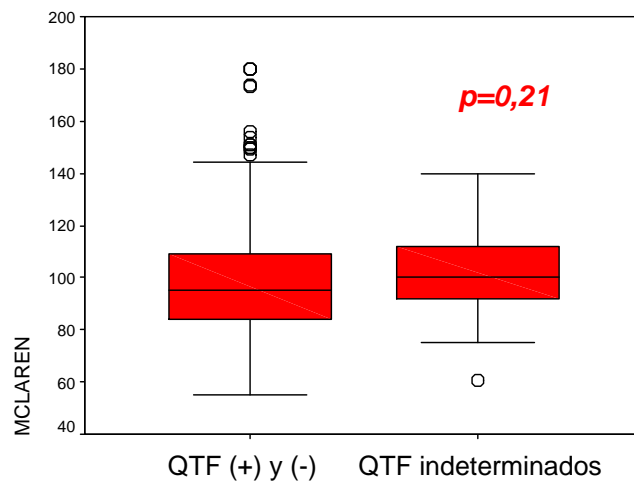
Los niños con resultados indeterminados tenían menor edad que aquellos con resultados positivos o negativos del QTF (*Figura 25 y Tabla 18*). Sin embargo, esta diferencia no resultó estadísticamente significativa ( $p=0,12$ ). Los niños con resultados indeterminados debido a una baja producción de IFN- $\gamma$  tras estimulación linfocitaria no mostraron peor índice nutricional ni presentaron más co-infecciones parasitarias, virales o bacterianas activas, que los pacientes con buena activación linfocitaria y resultados positivos o negativos del QTF ( $p=0,21$  y  $p=0,15$  respectivamente) (*Figura 26; Tablas 19 y 20*). En consecuencia, comprobamos por tanto como el resultado del QTF no se modificó por el estado nutricional, la edad o la presencia de co-infecciones como esta descrito que sucede con la PT.



**Figura 25.** Relación de la edad con los resultados del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.

**Tabla 18.** Edad media de los niños con resultados indeterminados y positivos o negativos del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®.

<b>Edad media de los niños con resultados del QTF indeterminados</b>	3,51 ± 2,99 años
<b>Edad media de los niños con resultados del QTF (+) o (-)</b>	4,78 ± 3,7 años
<b>p= 0,12</b>	



**Figura 26.** Relación del índice nutricional de McLaren con los resultados del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®.

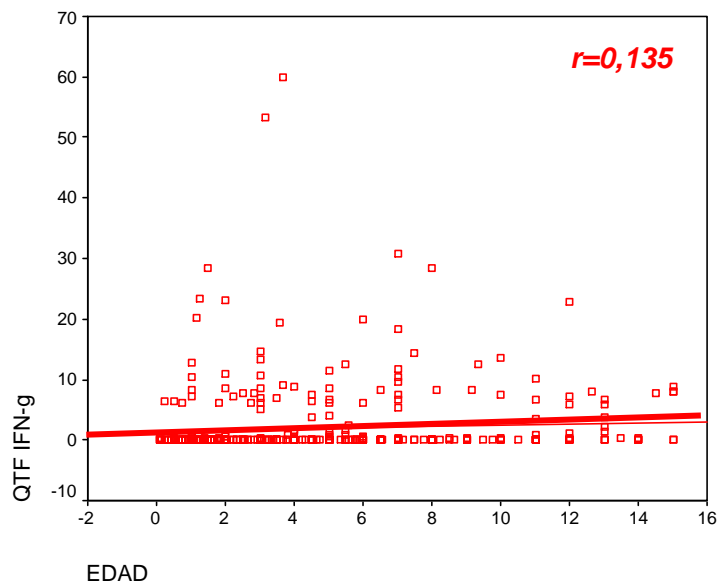
**Tabla 19.** Índice nutricional medio de los niños con resultados indeterminados y positivos o negativos del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®.

<b>Índice nutricional medio de los niños con resultados de QTF indeterminados</b>	102 ± 19 %
<b>Índice nutricional medio de los niños con QTF (+) o (-)</b>	97 ± 21%
<b>p= 0,21</b>	

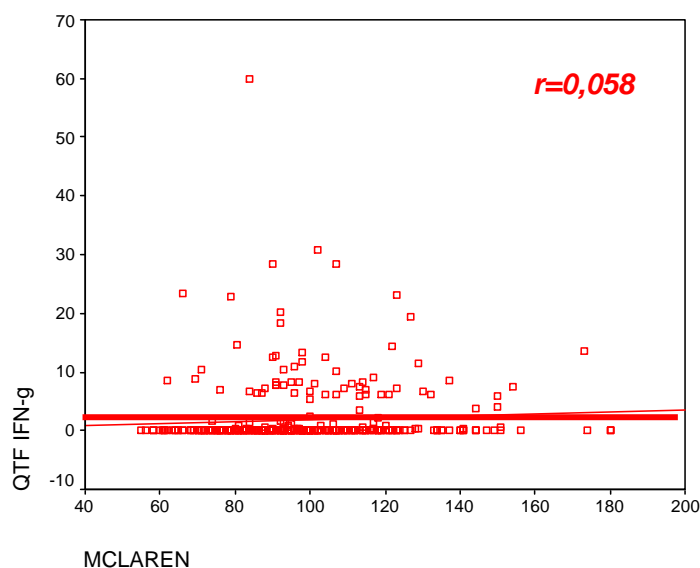
**Tabla 20.** Relación de las coinfecciones con los resultados indeterminados y positivos o negativos del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®.

Infección parasitaria, viral o bacteriana activa	RESULTADO QTF	
	(+) o (-)	Indeterminados
Ningún tipo de co-infección	94,6% (282/298)	5,3% (16/298)
Alguna co-infección	97,5% (157/161)	2,4% (4/161)
<b>p= 0,156</b>		

Igualmente, no observamos en nuestro estudio correlación entre la cantidad del IFN- $\gamma$  producida tras estimulación con fitohemaglutinina y la edad (*índice de correlación de Spearman*  $r=0,135$ ) (Figura 27) o el índice nutricional (*índice de correlación de Spearman*  $r=0,058$ ) (Figura 28). Por lo tanto la edad y el estado nutricional no influyeron en la capacidad de activación linfocitaria de nuestros pacientes y en consecuencia, en el resultado del QTF.



**Figura 27.** La cantidad de interferón-gamma producida tras la estimulación inespecífica de los linfocitos es igual en todos los grupos de edad.



**Figura 28.** La cantidad de interferón-gamma producida tras la estimulación inespecífica de los linfocitos no varía en función del estado nutricional de los pacientes.

#### 4.3.3. Resultados del QuantiFERON-TB-Gold Test In Tube® en la infección tuberculosa latente y en la enfermedad tuberculosa.

- *Resultados indeterminados*

Encontramos un porcentaje superior de resultados indeterminados del QTF en pacientes diagnosticados de ETB (8,8%; 6/68) en comparación con los observados en pacientes con ITBL y con los no infectados (3,5%; 14/391). Sin embargo, esta diferencia no resultó estadísticamente significativa ( $p=0,097$ ).

- *Cuantificación de IFN- $\gamma$*

No observamos diferencias en la cantidad de IFN- $\gamma$  producida tras estimulación con *ESAT-6* y *CFP-10* en niños con QTF positivo diagnosticados de ITBL y en niños con QTF positivo diagnosticados de ETB (*Tabla 21*) ( $p=0,7$ ). Por ello, la prueba no logró discriminar entre el estado de ITBL y la ETB activa.



**Tabla 21.** Cantidad de interferón-gamma producida tras estimulación con *ESAT-6* y *CFP-10* en los niños con infección tuberculosa latente y con enfermedad tuberculosa y resultados positivos del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.

IFN- $\gamma$ producido tras estimulación con <i>ESAT-6</i> y <i>CFP-10</i>	
Niños diagnosticados de ITBL con QTF (+)	9,02 $\pm$ 11,23 UI/mL
Niños diagnosticados de ETB con QTF (+)	9,15 $\pm$ 8,9 UI/mL
<i>p=0,7</i>	

#### **4.4. QUANTIFERON-TB GOLD TEST IN TUBE® Y PRUEBA DE TUBERCULINA: COMPARACIÓN DE SUS RESULTADOS**

Al comparar los resultados del QTF con los obtenidos mediante PT en toda la población estudiada, observamos la existencia de un 8,9% de hallazgos discordantes (41/459), debiéndose el 92,6% a respuestas positivas a la PT con resultados negativos del QTF (38/41) (*Tabla 22*).

En 3 niños detectamos discordancias por PT negativa y QTF positivo (*Tabla 22*). Estos pacientes estaban asintomáticos y se habían incluido en el estudio dentro del Grupo 1 (cribado de TB en inmigrantes/adoptados). Un paciente con meningitis tuberculosa confirmada microbiológicamente presentó PT negativa y QTF negativo. En este paciente ambos tests se positivizaron a las 6 semanas del inicio de la sintomatología. El QTF no fue negativo en ningún caso de enfermedad que hubiese sido detectado por la PT.

**Tabla 22.** Resultados de la prueba de tuberculina y del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en toda la población.

	PT		TOTAL
	(+)	(-)	
<b>QTF (+)</b>	93	3	96
<b>QTF (-)</b>	38	305	343
<b>QTF Indeterminado</b>	9	11	20
<b>TOTAL</b>	140	319	<b>459</b>

<b><u>RESULTADOS CONCORDANTES</u></b>	<b><u>86,7%</u></b> (398/459)
PT (+) / QTF (+)	- 23,3% (93/398)
PT (-) / QTF (-)	- 76,6% (305/398)
<b><u>RESULTADOS DISCORDANTES</u></b>	<b><u>8,9%</u></b> (41/459)
PT (+) / QTF (-)	- <b><u>92,6%</u></b> (38/41)
PT (-) / QTF (+)	- 0,7% (3/41)
<b><u>RESULTADOS INDETERMINADOS</u></b>	<b><u>4,3%</u></b> (20/459)
PT (+) / QTF INDETERMINADO	- 45% (9/20)
PT (-) / QTF INDETERMINADO	- 55% (11/20)

**Tabla 23.** Resultados de la prueba de tuberculina y del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en los niños en los cuales no se diagnostica de infección tuberculosa ni de enfermedad tuberculosa.

<b>RESULTADOS CONCORDANTES PT (-) / QTF (-)</b>	<b><u>95,5%</u></b> (304/318)
<b>RESULTADOS DISCORDANTES PT (-) / QTF (+)</b>	<b><u>0,9%</u></b> (3/318)
<b>RESULTADOS PT (-) / QTF INDETERMINADO</b>	<b><u>3,4%</u></b> (11/318)

**Tabla 24.** Resultados de la prueba de tuberculina y del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en niños diagnosticados de infección tuberculosa latente.

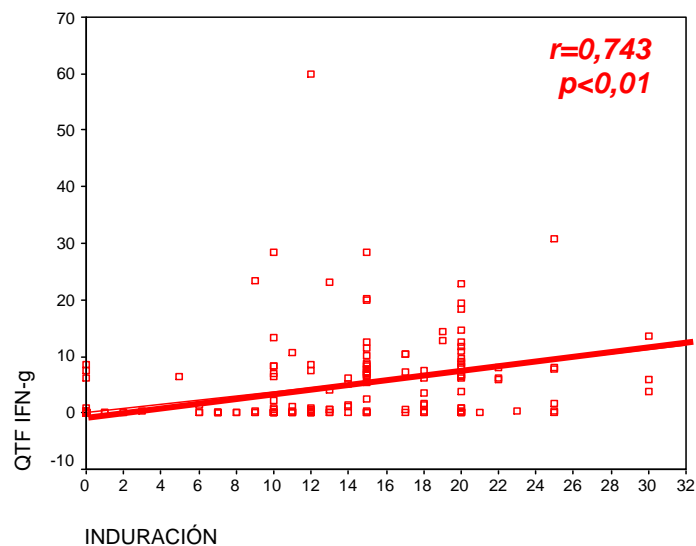
<b>RESULTADOS CONCORDANTES PT (+) / QTF (+)</b>	<b><u>43,8%</u></b> (32/73)
<b>RESULTADOS DISCORDANTES PT (+) / QTF (-)</b>	<b><u>52%</u></b> (38/73)
<b>RESULTADOS PT (+) / QTF INDETERMINADO</b>	<b><u>4,1%</u></b> (3/73)

**Tabla 25.** Resultados de la prueba de tuberculina y del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en niños con enfermedad tuberculosa.

<b><u>RESULTADOS CONCORDANTES</u></b>	<b><u>91,1%</u></b> (62/68)
PT (+) / QTF (+)	- 98,3% (61/62)
PT (-) / QTF (-)	- 1,6% (1/62)
<b><u>RESULTADOS INDETERMINADOS QTF</u></b>	
PT (+) / QTF INDETERMINADOS	<b><u>8,8%</u></b> (6/68)

#### 4.4.1. Induración del Mantoux y cuantificación de interferón-gamma.

En los pacientes con ambas pruebas concordantes (QTF y PT) se analizó la correlación entre el tamaño de la induración del Mantoux y la cantidad de IFN- $\gamma$ . Existió una correlación leve-moderada entre los milímetros de induración del Mantoux y la cantidad de IFN- $\gamma$  producida tras la estimulación con *ESAT-6* y *CFP-10* (Figura 29). Es decir, a mayor induración del Mantoux encontramos mayor producción de IFN- $\gamma$  (Índice de correlación de Spearman  $r=0,743$ ) ( $p<0,01$ ).



**Figura 29.** Correlación entre induraciones del Mantoux y la cantidad de interferón-gamma producida tras estimular con *Early Secretory Antigen Target-6* y *Culture Filtrate Protein 10*.

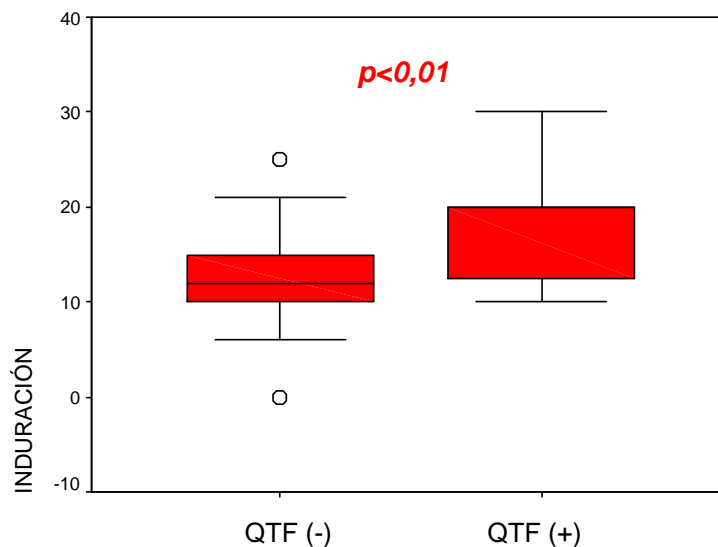
El QTF fue positivo en el 0,9% de todos los niños con intradermorreacción de Mantoux <5mm (3/313), en el 22,2% de aquellos con Mantoux entre 5 y 9 mm (4/18), en el 50,9% de los que presentaban induraciones entre 10 y 14mm (26/51) y en el 81,8% de los casos con induración  $\geq 15$ mm (63/77). Sin embargo fue negativo en el 14,2% de los niños con induraciones  $\geq 15$  mm (11/77).

#### 4.4.2. Análisis de los resultados en niños diagnosticados de infección tuberculosa latente.

Los resultados discordantes se observaron más frecuentemente en los pacientes diagnosticados de ITBL (52%; 38/73), que en los niños sanos o enfermos (3/386) ( $p < 0,01$ ) (Tabla 26). Además, los pacientes con resultados negativos del QTF diagnosticados de ITBL presentaron de manera estadísticamente significativa menores induraciones en la intradermorreacción de Mantoux que las que presentaron los niños con resultados positivos del QTF (Figura 30 y Tabla 27).

**Tabla 26.** Comparación de los resultados discordantes de la prueba de tuberculina y del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en niños sanos, en niños diagnosticados de infección tuberculosa latente y en niños con enfermedad tuberculosa.

<b>RESULTADOS DISCORDANTES EN ITBL</b>	<b>52%</b> (38/73)
<b>RESULTADOS DISCORDANTES EN SANOS Y CON ETB</b>	<b>0,7%</b> (3/386)
<b><math>p &lt; 0,01</math></b>	



**Figura 30.** Milímetros de induración de la prueba de tuberculina en pacientes con infección tuberculosa latente en función de su resultado de QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®.

**Tabla 27.** Induración del Mantoux en niños con infección tuberculosa latente en función de su resultado de *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.

<p><b>12,7 ± 4,7 mm</b> medios del Mantoux en niños con ITBL y QTF (-)</p> <p><b>17,9 ± 5,7 mm</b> medios del Mantoux en niños con ITBL y QTF (+)</p> <p style="text-align: center;"><b><i>p</i> &lt; 0,01</b></p>
--

#### 4.4.3. Análisis de los resultados en vacunados con BCG.

En 439 niños obtenemos resultados positivos y negativos del QTF y en 20 resultados indeterminados. Analizando estos 439 pacientes observamos como en población vacunada existen más resultados discordantes PT (+) / QTF (-) en comparación con la población no vacunada (*p* < 0,01) (Tabla 28).

**Tabla 28.** Porcentaje de resultados discordantes prueba de tuberculina positiva - *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* negativo en vacunados y no vacunados con BCG.

VACUNACIÓN BCG		
	NO	SI
PT (+) / QTF (-)	3,9% (9/230) IC (1-6%)	13,8% (29/209) IC (9-19%)
<b><i>p</i> &lt; 0,01</b>		

Los niños vacunados con BCG que presentan resultados discordantes PT (+) / QTF (-) son menores (5,4 ± 4,5 años) que los niños vacunados que presentan resultados concordantes PT (+) / QTF (+) (9,7 ± 4,4 años) (*p* = 0,003).

El análisis de la **concordancia de los resultados de ambas pruebas** diagnósticas se realizó mediante el uso de coeficientes **Kappa** con los siguientes puntos de corte:

- $K > 0,8$ : Acuerdo excelente
- $K 0,8-0,5$ : Acuerdo moderado
- $K < 0,5$ : Acuerdo pobre

Para determinar si existían más **resultados discordantes** en la población vacunada respecto a la no vacunada se utilizó el test de *McNemar*. Un resultado  $p < 0,01$  del test indicaría que los resultados discordante se distribuyen desigualmente en las poblaciones comparadas presentando alguna población (por ejemplo, la población vacunada) más resultados discordantes que la otra.

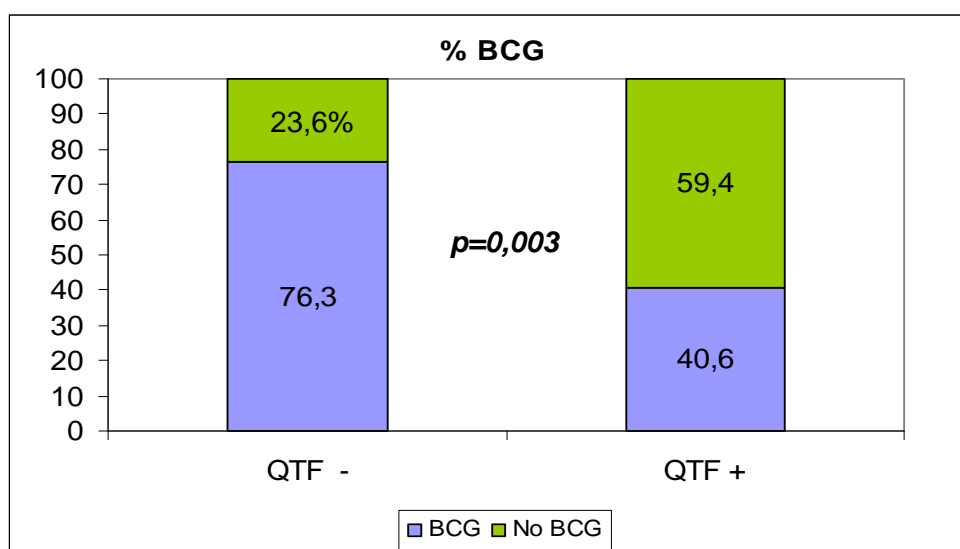
El índice *Kappa* mostró una concordancia excelente en los resultados obtenidos en la población no vacunada (*Kappa* 0,91;  $p < 0,01$ ) (*Tabla 29*). En población vacunada el índice *Kappa* mostró una pobre concordancia de los resultados (*Kappa* 0,47;  $p < 0,01$ ) (*Tabla 29*). Al comparar esta concordancia excelente obtenida en población no vacunada con la pobre obtenida en población vacunada observamos diferencias estadísticamente significativas, ya que los intervalos de confianza de los índices *kappa* no se solapan (*Tabla 29*).

El test de *McNemar* demostró igualmente la presencia de un mayor porcentaje de resultados discordantes PT (+) / QTF (-) en la población vacunada (*McNemar*  $p = 0,008$ ).

**Tabla 29.** Índice Kappa en población vacunada y no vacunada con BCG.

<b>KAPPA</b>		
Población <b>NO</b> VACUNADA con <b>BCG</b>	<b>0,914</b> IC95% (0,85-0,97)	<b>Diferencia estadísticamente significativa</b>
Población <b>SI</b> VACUNADA con <b>BCG</b>	<b>0,47</b> IC95% (0,33-0,62)	

Encontramos 38 niños con diagnóstico de ITBL que presentaron resultados discordantes PT (+) /QTF (-). El número de estos resultados fue significativamente mayor en la población vacunada (76,3%; 29/38) que en la población no vacunada (23,6%; 9/38). Por tanto, la población vacunada diagnosticada de ITBL presentó un mayor porcentaje de resultados negativos del QTF que la no vacunada ( $p=0,003$ ) (Figura 31). O lo que es lo mismo, el 65,9% de los niños vacunados con BCG diagnosticados de ITBL presentaron resultados negativos del QTF (29/44), en comparación con el 27,5% de los no vacunados (8/29) diagnosticados de ITBL que presentaron resultados negativos del QTF.



**Figura 31.** Porcentaje de niños vacunados y no vacunados con BCG diagnosticados de infección tuberculosa latente con resultados negativos y positivos del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® (excluyendo los indeterminados).



**4.4.4. Comparación de los resultados del *Quantiferon-TB-Gold Test In Tube®* y de la prueba de tuberculina en los distintos grupos en función de su riesgo de padecer tuberculosis.**

Al analizar los resultados de las pruebas en los pacientes del Grupo 1 (Cribado en inmigrantes/adoptados; Riesgo leve de TB) y del Grupo 2 (Estudio por contacto con TB; Riesgo moderado de TB) observamos como la concordancia aumenta de manera significativa a medida que aumenta el riesgo de TB (*Tabla 30*).

En el Grupo 1 observamos como esta concordancia es mejor en los no vacunados y peor en los vacunados. Esta diferencia roza la significación ya que los intervalos de confianza de los índices *Kappa* se solapan muy levemente (*Tabla 31*). El test de *McNemar* demostró igualmente la presencia de un mayor porcentaje de resultados discordantes PT(+) / QTF(-) en la población vacunada (*McNemar*  $p < 0,01$ ).

**Tabla 30.** Índice *Kappa* en Grupo 1 y Grupo 2.

Índice KAPPA		
<b>Grupo 1: Cribado en inmigrantes sin contacto con TB</b>	<b>0,441</b> IC95% (0,27-0,60)	<b>Diferencia significativa</b>
<b>Grupo 1: Estudio por contacto con TB</b>	<b>0,761</b> IC95% (0,61- 0,9)	

**Tabla 31.** Índice *Kappa* en inmigrantes y adoptados sin contacto con tuberculosis en función de su estado vacunal con BCG.

<b>KAPPA</b>		
<b>Grupo 1 Riesgo Leve de TB NO VACUNADOS CON BCG</b>	<b>0,735</b> IC95% ( <b>0,48-0,98</b> )	<b>Tendencia a significación</b>
<b>Grupo 1 Riesgo Leve de TB VACUNADOS CON BCG</b>	<b>0,313</b> IC95% ( <b>0,11-0,5</b> )	

Si en los niños vacunados del Grupo 1 (Cribado en inmigrantes/adoptados; Riesgo leve de TB) aumentamos el punto de corte de lectura del Mantoux a 15 mm la concordancia en los resultados de ambas pruebas mejora solo levemente (*Kappa* 0,45 respecto a *Kappa* 0,313), aunque ya no encontramos un mayor porcentaje de resultados discordantes PT (+) /QTF (-) (*McNemar p=1*).

Para estudiar los resultados obtenidos en función del riesgo real de padecer TB se analizó la concordancia de las pruebas en dos situaciones concretas:

- Niños **con contacto con TB y no vacunados**: En esta situación un resultado positivo de la PT expresa con una alta probabilidad una verdadera ITBL. La concordancia de las dos pruebas en esta situación es excelente (*Kappa* 0,888; IC95% 0,78-0,99) (Tabla 32).
- Niños **sin contacto con TB y vacunados**: En esta situación un resultado positivo de la PT puede ser un falso positivo por la BCG y no consecuencia de una verdadera ITBL. La concordancia de las dos pruebas en esta situación es muy pobre (*Kappa* 0,335; IC95% 0,15-0,52) (Tabla 32). El índice de McNemar sí encontró un número significativamente superior de resultados discordantes PT (+) /QTF (-) ( $p < 0,001$ ). Cuando en estos niños no expuestos a TB y vacunados aumentamos el punto de corte de lectura del Mantoux a 15 mm la concordancia en los resultados de ambas pruebas mejora solo levemente ( $K = 0,534$  respecto

a  $K=0,335$ ), aunque ya no encontramos un mayor porcentaje de resultados discordantes PT (+) / QTF (-) (McNemar  $p=1$ ).

Observamos además como el QTF es mejor predictor del riesgo de infección en pacientes expuestos [OR de QTF (+) para pacientes expuestos=13,3] que la PT [OR de la PT (+) para expuestos =9,1].

**Tabla 32.** Correlación de resultados en función del riesgo real de tuberculosis: Alto riesgo (con contacto con tuberculosis y no vacunados con BCG) y bajo riesgo (sin contacto con tuberculosis y vacunados con BCG).

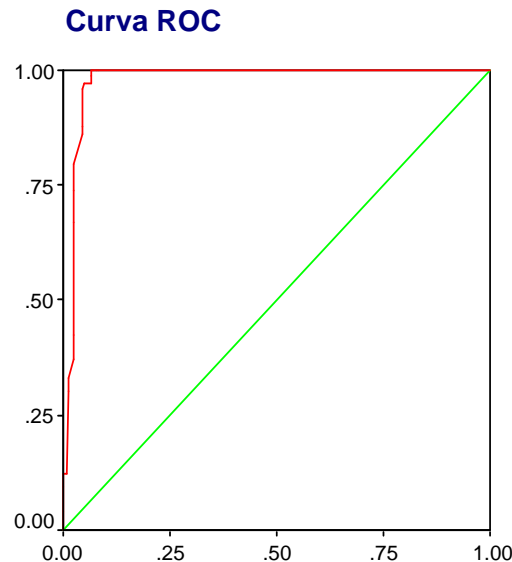
<b>KAPPA</b>		
<b>CON CONTACTO TB Y NO VACUNADOS</b>	<b>0,888</b> IC95% (0,78-0,99)	<b>Diferencia significativa</b>
<b>SIN CONTACTO TB Y VACUNADOS</b>	<b>0,335</b> IC95% (0,15-0,52)	

#### 4.4.5. Sensibilidad y especificidad de la prueba de tuberculina considerando el *Quantiferon-TB-Gold Test In Tube®* como “*Gold Standard*”. Cálculo de Curvas ROC.

Utilizando el QTF como “*Gold Standard*” del diagnóstico de TB analizamos las induraciones del Mantoux en función de los distintos puntos de corte que establece la SEIP<sup>27</sup>.

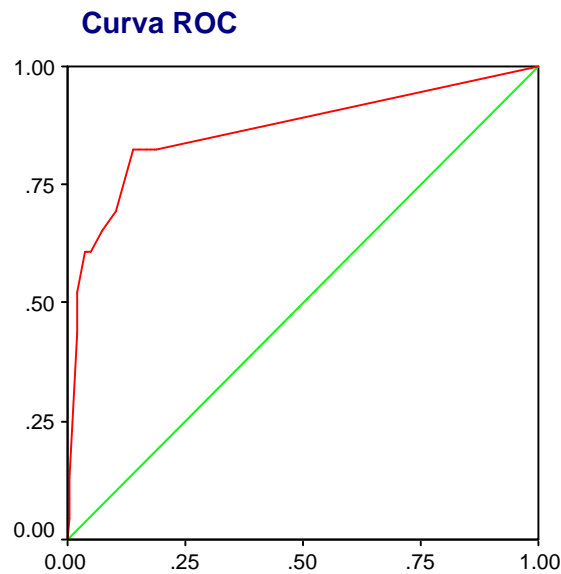
**Población sin cicatriz BCG.-** La curva ROC obtenida es muy buena (Área bajo la curva 0,977; IC95% 0,95-0,99), permitiendo discriminar puntos de sensibilidad y especificidad adecuados (*Figura 32*). Observamos como considerando el QTF como “*Gold Standard*” un Mantoux  $\geq 5$  mm presenta una excelente sensibilidad (100%; IC95% 95-100%) y especificidad (93,6%; IC95% 88,7-96,5%). Si consideramos la PT positiva cuando el Mantoux presenta induraciones iguales o

superiores a 10 mm la sensibilidad de la técnica en nuestra serie es del 95,9% (IC95% 88,6-98,6%) y la especificidad del 95,5% (IC95% 91,1-97,8%).



**Figura 32.** Curva ROC para la prueba de la tuberculina considerando el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* como "Gold Standard" en la población sin cicatriz de vacuna BCG.

**Población con cicatriz BCG.-** La curva ROC obtenida es aceptablemente buena (Área bajo la curva 0,865; IC95% 0,76-0,96), permitiendo discriminar aceptablemente puntos de sensibilidad y especificidad (*Figura 33*). La SEIP considera que la PT es positiva sí las induraciones del Mantoux son superiores a 15 mm en los niños vacunados recientemente de BCG, pero sugiere que la interpretación de induraciones entre 11 y 14 mm debe individualizarse según situación clínica, edad y contexto epidemiológico. Considerando en esta población positivas las induraciones del Mantoux iguales o superiores a 10 mm, la especificidad de la PT es de tan solo 86% (IC95% 80-90%) y la sensibilidad del 82,6% (IC95% 63-93%). Si consideramos positivas induraciones del Mantoux iguales o superiores a 15 mm la sensibilidad de la PT se reduce al 60,9% (IC95% 40,8-77,8%) aunque mejora la especificidad de manera importante (97%; IC95% 92,4-98,2%). Es decir, que si utilizásemos este punto de corte, no diagnosticaríamos un porcentaje elevado de verdaderos casos.

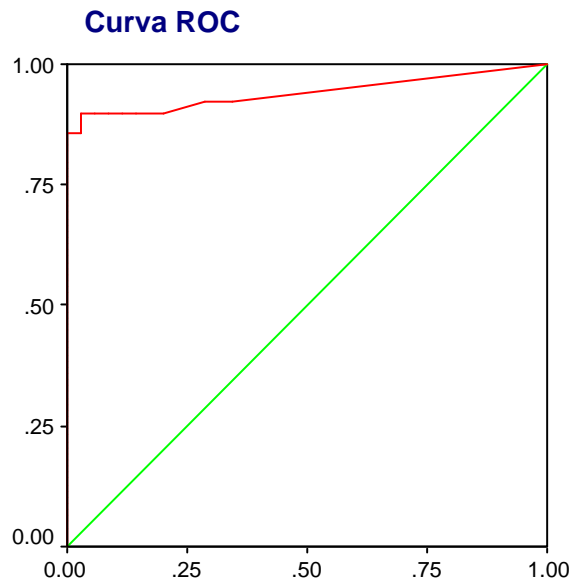


**Figura 33.** Curva ROC para la prueba de tuberculina considerando el QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® como “Gold Standard” en población con cicatriz de vacuna BCG.

#### **4.4.6. Sensibilidad y especificidad del *Quantiferon-TB Gold Test In Tube*® considerando la prueba de tuberculina como “Gold Standard”. Cálculo de Curva ROC.**

Analizamos la sensibilidad y especificidad del QTF según los niveles de corte de IFN- $\gamma$  producido tras estimulación con *ESAT-6* y *CFP-10* aceptados como positivos ( $>0,35$  UI/mL), utilizando la PT como “Gold-Standard”. Para ello seleccionamos una población en la cuál no sea frecuente la presencia de falsos positivos del Mantoux: Niños sin cicatriz BCG con riesgo de TB (con contacto con TB o con clínica compatible).

La curva ROC obtenida es muy buena (Área bajo la curva 0,94; IC95% 0,89-0,98), permitiendo discriminar los puntos de sensibilidad y especificidad (*Figura 34*).



**Figura 34.** Curva ROC para el QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® considerando como “Gold Standard” la prueba de tuberculina realizada en población con contacto con tuberculosis o con clínica compatible y sin cicatriz de vacuna BCG.

Observamos que con el punto de corte aceptado actualmente la sensibilidad del QTF en nuestra muestra es del 86% (IC95% 79,5-93,8%) y la especificidad del 97% (IC95%85,5-99,5%). Encontramos como la sensibilidad estimada mediante la curva ROC del QTF considerando la PT como referente es del 86%, aunque el QTF fue capaz de detectar el 99% de los casos diagnosticados de ETB de nuestra serie. Esto se podría explicar por la posible existencia de resultados falsos positivos del Mantoux que no se produzcan únicamente por vacunación con BCG.

Debemos señalar que además la media de IFN- $\gamma$  producido tras la estimulación con antígenos *ESAT-6* y *CFP-10* del *MTB* en pacientes enfermos fue muy superior al punto de corte establecido de 0,35 UI/mL (Media 9,15 $\pm$ 8,9 UI/mL), presentando tan solo un 12,9% de los enfermos cifras de IFN- $\gamma$  inferiores a 1 UI/mL (8/62, 6 resultados indeterminados excluidos).

## **CAPÍTULO 5**

***DISCUSIÓN***

---

En esta tesis doctoral hemos analizado la utilidad del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* en el diagnóstico de la ITBL y de la ETB en niños. Hasta la fecha nuestra serie constituye una de las más amplias realizadas en niños<sup>25,80,108,113,120,121,128,130-135</sup>, siendo el primer trabajo en España que analiza la utilidad de esta técnica en población exclusivamente pediátrica. Se han publicado tan solo otros dos estudios en nuestro país que incluyen fundamentalmente población adulta<sup>136,137</sup>.

Como comentaremos a lo largo de la discusión los hallazgos encontrados concuerdan con la evidencia disponible en la actualidad, y sugieren un papel de las nuevas técnicas de inmunodiagnóstico en la detección de la ITBL y de la ETB en niños. Sin embargo, como señalan la mayor parte de autores, es preciso analizarlo en series pediátricas amplias que establezcan sus indicaciones concretas en niños.

## **5.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES DE NUESTRA SERIE**

Actualmente encontramos en la literatura pocas series de niños inmigrantes o procedentes de adopción internacional publicadas en España<sup>57,138</sup>, constituyendo los pacientes incluidos en este estudio una de las series más amplias comunicadas en nuestro país.

Los tres países de los cuales procede el mayor porcentaje de inmigrantes en España son Marruecos, Rumanía y Colombia. El importante número de niños adoptados internacionalmente incluidos incrementa en nuestra serie el número de menores originarios de China, Nepal, Etiopía o Rusia, países en los cuales las familias españolas adoptan prioritariamente<sup>21,56</sup>. Observamos como África es el principal continente del cual proceden los menores (31,3%), Latinoamérica el segundo (28,5%) y Asia el tercero, aportando un 25,9% de niños procedentes de China, Nepal o India (*ver figura 18, pg 66*).



El elevado número de casos originarios de África y de Asia es llamativo. Este hecho se explica fundamentalmente por el creciente fenómeno de la adopción en Etiopia o China. Sin embargo, debemos también señalar que según datos del Ministerio de Trabajo e Inmigración el mayor porcentaje de extranjeros menores de 16 años procede de África (hasta un 23,89%)<sup>13</sup> y que, hasta el 47% de los marroquíes y el 13,6% de los chinos que residen en España han nacido en nuestro país, revelando altas tasas de natalidad en estas poblaciones y un aumento progresivo del número de niños hijos de estos inmigrantes<sup>13</sup>.

Observamos además que los niños inmigrantes y adoptados presentan habitualmente un estado nutricional deficiente, siendo este hecho más evidente en los adoptados<sup>57,139</sup>. Igualmente un porcentaje no despreciable de niños suelen presentar a su llegada a España patología infecciosa importada de sus países de origen, fundamentalmente parásitos intestinales. Este alto porcentaje de patología infecciosa es un fenómeno bien descrito por otros autores<sup>56,138,140</sup>. Por ello, se ha establecido la recomendación de realizar un primer examen de salud y un despistaje de la patología infecciosa importada más prevalente a todo niño inmigrante o procedente de adopción internacional a su llegada a nuestro país<sup>126,138,141,142</sup>.

En esta primera valoración se recomienda también la realización de una PT, por el mayor riesgo de infección TB que se describe en estos niños respecto al de la población pediátrica española<sup>72,139,143-145</sup>.

Sin embargo muchos de nuestros pacientes presentan en el momento de la realización de la PT inicial múltiples infecciones activas y un deficiente estado nutricional, situaciones que pueden propiciar falsos negativos de la PT<sup>27</sup>, siendo aún poco conocida la influencia que estos factores pudiesen tener sobre la producción de IFN- $\gamma$  y la activación linfocitaria tras estímulo con *ESAT-6* y *CFP-10*, como comentaremos posteriormente.

### **5.1.1. Características de los niños diagnosticados de enfermedad tuberculosa.**

El 94,1% de las ETB de nuestra serie eran formas pulmonares, que sigue siendo la principal forma de presentación clínica de la ETB en población pediátrica<sup>146,147</sup>. En nuestro estudio los niños con ETB eran menores que aquellos con ITBL. Este fenómeno descrito en otras series se debe fundamentalmente al mayor riesgo de los niños pequeños y lactantes de desarrollar enfermedad tras la primoinfección<sup>147</sup>. Hasta un 22% de los pacientes diagnosticados finalmente de ETB estaban asintomáticos, consultando todos ellos por exposición a un enfermo bacilífero.

Este aspecto refuerza la importancia de realizar en población pediátrica un extenso y correcto diagnóstico de ITBL y de ETB tras el contacto con enfermos tuberculosos bacilíferos, ya que la enfermedad se puede presentar con escasa o nula sintomatología clínica<sup>146</sup>. En los casos en los cuales se demostró contacto con un adulto enfermo, el 90,9% fueron contactos familiares estrechos, generalmente los padres del menor, siendo el 84% de ellos bacilíferos (*ver tabla 8, pg 71*). Por tanto, siempre que diagnostiquemos una ETB en un niño, debemos sospechar la presencia de un adulto muy próximo y bacilífero, generalmente conviviente con él<sup>24,148</sup>. Por ello la ETB en niños se considera un evento centinela de la transmisión de *MTB* cercana y reciente en la comunidad<sup>149,150</sup>.

El diagnóstico de confirmación de la enfermedad se realiza mediante la detección de *MTB* por cultivo o técnicas de biología molecular como la PCR. Sin embargo, incluso en Centros que disponen de Servicios de Microbiología experimentados, la detección del bacilo en población pediátrica se produce en menos de la mitad de los casos, al igual que sucede en nuestra serie<sup>151,152</sup>. Esto es debido fundamentalmente a dos hechos. En primer lugar, porque las formas de ETB pulmonar en niños son paucibacilares y en segundo, por la dificultad de obtener muestras de esputo para cultivo en población infantil incapaz de toser y expectorar eficazmente<sup>153</sup>. Por ello, el diagnóstico de la ETB en niños se sigue

basando en la PT (la cual sigue teniendo una adecuada sensibilidad en el diagnóstico de la ETB en edad pediátrica, sobre todo en formas pulmonares), en la presencia de sintomatología que requiere mantener un alto grado de sospecha clínica por la existencia de formas oligosintomáticas y en datos epidemiológicos como el contacto reciente con adulto bacilífero.

Tan solo el 10,2% de los niños diagnosticados de ETB presentaba cicatriz de BCG (*ver tabla 8, pg 71*), lo cual llama la atención dado que hasta el 72% de ellos proceden de países donde se vacuna rutinariamente (*ver pg 66*), y habiendo encontrado que el 46% de toda nuestra muestra presentaba cicatriz (*ver pg 76*). Este hecho sugiere un posible papel de la vacuna en la protección de la enfermedad<sup>39</sup>, motivo por el que la OMS continúa recomendando su utilización en países con alta prevalencia de TB<sup>154</sup>.

## **5.2. INFLUENCIA DE LA VACUNACIÓN CON BCG EN EL RESULTADO DE LA PRUEBA DE TUBERCULINA**

Una de las labores fundamentales que debe realizar el pediatra en el primer examen de salud de pacientes inmigrantes y adoptados al llegar a España es la valoración de las vacunas recibidas en su país de origen<sup>57</sup>.

Sin embargo, esta labor es compleja debido a que en múltiples ocasiones los pacientes no aportan documento de vacunación<sup>155,156</sup>. En nuestra serie solo el 46% de los niños procedentes de zonas en las cuáles se vacuna habitualmente con BCG aportaba documento válido, siendo mucho más frecuente encontrarlo en los niños procedentes de adopción internacional que en los menores inmigrantes (*ver pg 75*).

Cilleruelo y cols. constatan en una serie reciente de niños adoptados como hasta un 73% de los menores aportan documento de vacunación válido<sup>57</sup>. Esto puede deberse al hecho de que los padres adoptivos estén especialmente

interesados en obtener la mayor información referente a la salud del menor y de que las agencias de adopción internacional asesoran a los padres e informan de la importancia de obtener todos los informes médicos disponibles incluyendo los documentos de vacunación<sup>57</sup>.

En nuestra serie un 18,7% de los niños que aportaban un documento constatando la administración de la BCG no presentaba ninguna cicatriz en zona deltoidea secundaria a vacunación, siendo más frecuente la presencia de la misma en adoptados que en inmigrantes (*ver pg 75*).

Por ello y, coincidiendo con la mayor parte de los estudios publicados, decidimos considerar como indicador de vacunación la presencia de cicatriz en zona deltoidea, localización anatómica donde frecuentemente se administra la vacuna, dado que parece ser el parámetro que mejor se correlaciona con una positividad posterior de la PT<sup>37,41,43,54,55</sup>.

Algunos autores observan un elevado porcentaje de niños con cicatriz que no presentan Mantoux positivo<sup>56</sup>. Bianchi y cols. en una serie de 336 niños inmigrantes o adoptados señalan como el 87% de los menores con cicatriz o con documento válido en el cual se constata alguna dosis de BCG presentaron PT negativa<sup>128</sup>. En nuestra serie el 78,6% de los niños con cicatriz (162/206) tienen una PT negativa (*ver tabla 14, pg 77*), por lo cual comprobamos que un porcentaje importante de niños vacunados no positivizan la PT tras la administración de BCG<sup>56,57</sup>. Sin embargo un 21,3% de los niños vacunados presentó PT positiva, siendo imposible diferenciar hasta el momento cuales de aquellos resultados reflejaban una verdadera infección por *MTB* y cuales eran consecuencia de la vacunación previa con BCG.

Ante la presencia de un Mantoux positivo en un niño con cicatriz BCG, dado el riesgo de desarrollar ETB tras la infección y la imposibilidad de comprobar que resultados son falsos positivos y cuales no, el pediatra habitualmente suele obviar

el efecto de la vacuna sobre la PT e instaurar profilaxis, una vez descartada la ETB.

En nuestra serie, a pesar de encontrar un porcentaje superior de resultados positivos de la PT en niños con cicatriz respecto al resto de pacientes (21,3% versus 15,6%), esta diferencia no resultó estadísticamente significativa ( $p=0,15$ ) (ver tabla 14, pg 77). Al analizar los resultados en función de la edad se observó como los menores de 3 años vacunados si presentaban mayores porcentajes de resultados positivos de la PT que los menores de 3 años no vacunados ( $p=0,008$ ) (ver tabla 16, pg 78). Igualmente se observó que el 12,6% de los vacunados presentaba induraciones de la PT entre 10 y 14 mm frente al 4,3% de los no vacunados, siendo esta diferencia estadísticamente significativa (ver tabla 15, pg 77).

La vacunación no parece tener efecto en la protección frente a la primoinfección TB<sup>35</sup>, aunque este hecho es difícil de comprobar puesto que lo único que determina la infección latente por *MTB* es una PT positiva que también se positiviza tras la administración de la BCG<sup>157</sup>. Estudios recientes observan que un porcentaje significativamente menor de vacunados presenta IGRA positivo tras exposición a *MTB* en comparación con los no vacunados, postulando una probable protección de la BCG frente a la infección TB<sup>108,157</sup> y estimando como por cada 5 niños vacunados se evitaría 1 caso de infección en una situación de contacto estrecho<sup>157</sup>.

Si lo que sugieren estos autores fuese cierto y la vacuna BCG pudiese evitar alguna infección por *MTB*<sup>108,157</sup>, los no vacunados serían más susceptibles de adquirir la infección, desarrollando resultados positivos de la PT. Esto podría explicar que a pesar de que la vacuna pueda originar resultados falsos positivos de la PT, no observásemos diferencias estadísticas al comparar los resultados del Mantoux en población vacunada (en la cual aumentarían los falsos positivos por BCG) y la no vacunada (en la cual aumentarían los resultados positivos por verdaderas ITBL).

En la actualidad la PT debe seguir siendo, por su bajo coste y fácil disponibilidad, la prueba de elección para el diagnóstico de la ITBL y de la ETB, incluso en niños vacunados. Sin embargo y a tenor de nuestros hallazgos, parece probable que un porcentaje de resultados positivos de la misma observados en niños vacunados y asintomáticos, que no refieren contacto con adulto enfermo de TB, especialmente si son menores de 3 años o presentan induraciones intermedias del Mantoux (entre 10 y 15 mm), pudiesen ser falsos positivos. Determinados casos seleccionados se podrían beneficiar de la realización de una prueba más específica como el QTF, debido a que su resultado no se afecta por vacunación previa con BCG. Sin embargo son necesarios nuevos estudios realizados en población pediátrica que establezcan la indicación de realización de un “*doble screening*” y la actitud terapéutica en estos casos con PT positiva y QTF negativo.

### **5.3. QUANTIFERON-TB GOLD TEST IN TUBE®: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS**

#### **5.3.1. Sensibilidad y especificidad de la prueba.**

Evaluar la fiabilidad de una prueba para el diagnóstico de ITBL estimando su sensibilidad y especificidad es una tarea difícil. Para validar cualquier prueba diagnóstica precisamos comparar sus resultados con una prueba referente conocida como “*Gold Standard*”. En el caso de la ETB el “*Gold Standard*” es el cultivo positivo de *MTB*, el cual es difícil de obtener en niños como comentamos con anterioridad.

Sin embargo, en el caso de la ITBL no disponemos de ninguna prueba referente, ya que el único método diagnóstico disponible hasta el momento es la PT, que como hemos comprobado, puede asociar un número nada despreciable de resultados falsos positivos y negativos, y por tanto no es un buen “*Gold Standard*”.

Establecer la sensibilidad y especificidad de cualquier prueba para el diagnóstico de la ITBL parece ser una tarea imposible<sup>99,128,132</sup>. Entonces, ¿cómo analizar la validez de las nuevas pruebas para el diagnóstico de la ITBL?

Ante la ausencia de una prueba referente, la mayor parte de estudios estiman la especificidad analizando el porcentaje de resultados negativos obtenidos en individuos con bajo riesgo de infección TB (asintomáticos, inmunocompetentes, sin contacto conocido con TB o procedentes de zonas de baja endemia de TB)<sup>100</sup>. El cálculo de la sensibilidad de la prueba para el diagnóstico de la ITBL se realiza extrapolando los resultados obtenidos en individuos enfermos con confirmación microbiológica<sup>100</sup>. Sin embargo no debemos olvidar que la ETB y la ITBL representan distintos estadios de la infección por *MTB*, por lo cual pudiese ser que la sensibilidad de una misma prueba para el diagnóstico de ambos estadios fuese diferente<sup>100</sup>.

A pesar de estas limitaciones metodológicas, la mayor parte de los estudios realizados en adultos comparando IGRAS con PT encuentran como estos nuevos tests son más específicos que el Mantoux en la detección de la ITBL, siendo al menos igual de sensibles<sup>118,119,122,158-160</sup>, aunque algunos autores afirman que pudiesen ser incluso superiores en sensibilidad<sup>113,161</sup>.

En 2007 se publica el primer gran metanálisis sobre los 83 estudios publicados hasta el momento, de los cuáles solo 7 habían sido realizados en niños<sup>119</sup>. Los autores observan una sensibilidad superior de TSPOT respecto a QTF (88% versus 76%) con una discreta mejor especificidad del QTF respecto al TSPOT (97% y 92% respectivamente). Ambas pruebas resultaban más sensibles y específicas que la PT (sensibilidad del 71% y especificidad del 66%). Este mismo metanálisis señala sin embargo, que debido a la escasez y a la heterogeneidad de los estudios en población pediátrica no es posible estimar la sensibilidad y especificidad de estas pruebas en niños con los datos disponibles en ese momento.

En 2008 Pai y cols. actualizan el análisis añadiendo 20 nuevos estudios, todos en adultos<sup>162</sup>. En este nuevo análisis, ambos tests vuelven a ser más sensibles y específicos que la PT, aunque el autor sigue observando como QTF es más específico y menos sensible que TSPOT. Por eso el TSPOT podría tener un mayor papel en pacientes inmunodeprimidos, mejorando la sensibilidad de la PT en este colectivo<sup>162,163</sup>. Así mismo la utilidad fundamental del QTF, al ser algo más específico que TSPOT y claramente superior en especificidad a la PT, podría residir en aquellos casos de pacientes inmunocompetentes en los cuales se sospeche un resultado falso positivo del Mantoux. En estos casos un resultado positivo del QTF confirmaría una verdadera infección por *MTB*.

Recientemente se ha utilizado TSPOT y QTF para diagnosticar ETB pulmonar en adultos utilizando linfocitos obtenidos del lavado alveolar en estos enfermos<sup>164</sup>. Los autores observan como TSPOT es más sensible que la baciloscopia de esputo en pacientes con ETB confirmada mediante cultivo<sup>164</sup>. Igualmente, la utilización de IGRAS en LCR en pacientes con meningitis tuberculosa presenta una mejor sensibilidad que otros métodos como la baciloscopia, el cultivo o la PCR para *MTB*<sup>165,166</sup>.

Sin embargo, la sensibilidad y especificidad de estas nuevas pruebas diagnósticas puede variar en función de la población en la que se estudien, como por ejemplo en individuos inmunodeprimidos, en los cuales su sensibilidad es algo menor<sup>33</sup>.

La mayor parte de los estudios realizados en niños muestran en general una excelente sensibilidad de ambos IGRAS en ETB<sup>80,113,120,128,132</sup>, encontrando algún autor que es algo superior para el TSPOT que para el QTF, al igual que se observaba en adultos<sup>134</sup>. Un estudio en África que incluye niños malnutridos e infectados por el VIH observó que TSPOT presentaba mejor sensibilidad que la PT en niños con ETB confirmada o probable<sup>113</sup>. En nuestro estudio QTF también demostró una elevada sensibilidad en el diagnóstico de la enfermedad, resultando positivo en el 98% de los casos de ETB.



Sin embargo, la mayor ventaja de los IGRAS respecto a la PT es su mayor especificidad, sobre todo en población vacunada con BCG o infectada por otras micobacterias, en la cuál la PT parece presentar un elevado porcentaje de resultados falsos positivos<sup>80,119</sup>. A pesar de observar en casos de ETB una buena correlación entre los resultados de la PT y del QTF, en casos de ITBL esta correlación es baja, sobre todo en población vacunada con BCG<sup>120,128,132</sup>.

### **5.3.2. Resultados indeterminados.**

Uno de los principales inconvenientes de los IGRAS es la aparición de resultados indeterminados, los cuales se observan con mucha mayor frecuencia en pacientes con PT negativa, debido probablemente a una condición clínica potencialmente inmunodepresora acompañante<sup>167</sup>.

Tsiouris y cols. no encuentran ningún resultado indeterminado del QTF en 184 niños, aunque todos ellos eran mayores de 5 años<sup>168</sup>. Bergamini y cols. describen como en menores de 4 años QTF presenta un elevado porcentaje de resultados indeterminados (16,4%) frente a los obtenidos con TSPOT (2%)<sup>131</sup>. El 95% de los resultados indeterminados del QTF fueron TSPOT negativos y solo el 10% asociaron PT positiva (3 niños vacunados con BCG y uno con infección por *Mycobacterium avium*)<sup>131</sup>.

Igualmente otros autores parecen observar con mayor frecuencia resultados indeterminados en QTF respecto a TSPOT<sup>122,164</sup>, siendo esta una razón por la cual sería más recomendable realizar TSPOT en pacientes inmunodeprimidos y en niños pequeños con sospecha de resultado falso negativo de la PT<sup>162</sup>. Solo Connell y cols. encuentran mas resultados indeterminados en TSPOT que en QTF, lo cuál explican por una mayor complejidad técnica de procesamiento del TSPOT que pudiese ocasionar errores de laboratorio<sup>132</sup>.

La presencia de resultados indeterminados que parece representar a primera vista un inconveniente, podría ser una ventaja de los IGRAS respecto al Mantoux, dado que nos diferenciaría los resultados verdaderamente negativos de los teóricos falsos negativos por inmunodepresión, advirtiéndonos de una deficiente activación linfocitaria en los pacientes.

En nuestra serie el porcentaje de resultados indeterminados no fue elevado (4,3%) (ver pg 78). Sin embargo, en los diversos estudios realizados en población pediátrica el porcentaje de resultados indeterminados varía enormemente (de 0% a 35%) encontrando algunos autores asociación entre el mismo y la edad de los niños<sup>131,132</sup> o su situación inmune (cáncer, VIH, tratamientos inmunosupresores, infecciones activas...)<sup>25,133</sup>.

Un factor que podría explicar la variabilidad en el porcentaje de resultados indeterminados observados podría ser el tiempo transcurrido entre la extracción y la incubación de la sangre. A pesar de que la recomendación exige que el plasma se incube junto con los antígenos en las primeras 12 horas tras su extracción<sup>100</sup>, algún estudio realizado en adultos inmunodeprimidos encuentra que cuando este tiempo es inferior a 2 horas, el porcentaje de indeterminados observado es similar al encontrado en inmunocompetentes<sup>169</sup>. Todas las muestras de nuestros pacientes fueron incubadas en las primeras 3 horas tras su extracción, lo cual explica el bajo porcentaje de resultados indeterminados encontrados, a pesar de incluir pacientes de corta edad.

### **5.3.3. Influencia de la edad en el resultado del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube*®.**

La respuesta inmunológica innata mediada por macrófagos y células presentadoras de antígeno así como el desarrollo de una inmunidad protectora frente al bacilo tuberculoso dependiente de los linfocitos T CD4 es fundamental para evitar tanto el desarrollo de la ETB como la diseminación del bacilo<sup>84</sup>. De igual modo hemos señalado con anterioridad la importancia de la producción de IFN- $\gamma$

en el control de la infección por *MTB*. Además, la respuesta de hipersensibilidad retardada dependiente de células T memoria que se origina en individuos infectados por *MTB* tras la administración de la PT dará lugar a la respuesta cutánea que medimos como induración palpable.

Por tanto, los sujetos con déficit inmunitario de linfocitos CD4, como por ejemplo los infectados por el virus VIH, tienen mayor riesgo tanto de desarrollar esta enfermedad como de presentar falsos negativos de la PT<sup>170</sup>.

En los niños, muchos de estos componentes del sistema inmune que controlan la infección por micobacterias presentan, en comparación con lo observado en adultos, diferencias cualitativas y cuantitativas<sup>84</sup>. Los macrófagos alveolares, sobre todo en los lactantes, tienen disminuida su capacidad bactericida y su capacidad de quimiotaxis y reclutamiento de monocitos y macrófagos en tejidos<sup>84</sup>. Se ha objetivado que hasta los seis años de edad no se alcanzan los niveles de respuesta propios del adulto<sup>84,171</sup>. Además en niños pequeños, dichas células tienen menor capacidad de producir citoquinas en respuesta a la infección. Todo ello conlleva un aumento en la probabilidad de diseminación de los bacilos, explicando este hecho la presencia más frecuente en niños pequeños de formas clínicas diseminadas como la ETB miliar o la meningitis.

En los niños las células dendríticas de los ganglios linfáticos pulmonares, que tienen un papel fundamental en la defensa frente a *MTB* actuando como células presentadoras de antígeno en el estímulo de los linfocitos T<sup>84</sup>, presentan una menor capacidad de respuesta tanto cuantitativa como cualitativa en comparación a los adultos<sup>172</sup>. Esto se traduce en que, a nivel del ganglio linfático, se produce un retraso en la respuesta que condiciona igualmente un mayor riesgo de diseminación de bacilos.

Diversos estudios observan una menor capacidad para producir linfoquinas y un peor funcionamiento de los linfocitos T CD4 en niños y lactantes, con una menor respuesta en la producción de IFN- $\gamma$  y de TNF- $\alpha$  que son elementos

esenciales para una respuesta vigorosa frente a la infección por micobacterias<sup>84</sup>. Todos estos fenómenos en conjunción con otros factores genéticos, ambientales, la intensidad y el tiempo de exposición... pueden condicionar que la infección progrese a enfermedad.

La sensibilidad de la PT esta disminuida en niños pequeños y en individuos con inmunidad celular deprimida, malnutrición o ETB diseminada<sup>24,27,128,173</sup> observándose con mayor frecuencia falsos negativos de la PT en los menores de 48 meses<sup>174</sup>.

Conociendo por tanto la peculiar respuesta inmunológica de los niños ante la infección y sabiendo que los IGRAS se basan en la producción de IFN- $\gamma$  y en la activación linfocitaria, nos planteamos si al igual que sucede con la PT estas pruebas pudiesen ser menos sensibles en niños pequeños.

Como hemos señalado, algunos autores observan un porcentaje importante de resultados indeterminados en niños, considerando que quizás sea este hecho el principal inconveniente de la utilización de IGRAS en la población pediátrica<sup>120,122</sup>. Solo Connell y cols. encuentran un alto porcentaje de resultados indeterminados por excesiva producción de IFN- $\gamma$  del control negativo utilizando un formato antiguo del QTF y siguiendo las recomendaciones iniciales de lectura del mismo. Éstas establecían una producción superior a 0,7 UI/mL para considerar exceso de IFN- $\gamma$  en el control negativo<sup>100</sup>. Posteriormente, las nuevas instrucciones para la interpretación del QTF de la casa comercial permiten concentraciones superiores a 8 UI/mL<sup>132</sup>. A pesar de este anecdótico hallazgo de Connell, el mayor porcentaje de los resultados indeterminados en niños se debe fundamentalmente a una ausencia de producción de IFN- $\gamma$  por una escasa respuesta de los linfocitos a la estimulación con fitohemaglutinina<sup>133</sup>.

Muchos estudios encuentran una clara asociación entre la edad y la disminución de la producción de IFN- $\gamma$  o la activación linfocitaria en el control positivo o mitógeno<sup>25,26,122,131,133</sup>, con una mayor tasa de resultados indeterminados

en los menores de 5 años respecto a los mayores<sup>122</sup>. Esto sugiere que quizás el QTF podría tener menor utilidad en los niños pequeños<sup>131,133,134</sup>. Lighter y cols. observaron en su estudio una menor producción de IFN- $\gamma$  tras estimulación con fitohemaglutinina en los niños más pequeños. Sin embargo, este hecho no condicionó un mayor porcentaje de resultados indeterminados en el grupo de menor edad<sup>175</sup>. En una serie publicada en 2009, Bergamini y cols. incluyen pacientes menores de 19 años con el mismo criterio que utilizamos en esta tesis: Niños inmigrantes o adoptados que precisan cribado de TB, niños que refieren contacto con TB y niños con sospecha clínica de ETB<sup>131</sup>. El autor encuentra una diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de resultados indeterminados en menores de 4 años (21,5 %), frente a los obtenidos en mayores de 4 años (0,4%). Igualmente, observó una correlación entre la edad de los niños y la cantidad de IFN- $\gamma$  producido tras estímulo con fitohemaglutinina (a mayor edad, mayor producción de IFN- $\gamma$ ) siendo este hecho especialmente llamativo en los menores de 4 años<sup>131</sup>.

Sin embargo, otros autores que analizan la correlación entre la edad y la cantidad de IFN- $\gamma$  producida por el QTF no encontraron una menor producción de esta citocina en niños<sup>128</sup>. Nakaoka y cols. estudian 207 niños expuestos a TB no observando evidencia de menor respuesta del QTF en los menores de 5 años<sup>130</sup>. Igualmente Nicol y cols. no encuentran diferencias significativas en la respuesta del TSPOT en función de la edad<sup>102</sup>. Connell y cols. en 2008 en una serie de 96 niños observa que la edad no modifica los resultados obtenidos mediante TSPOT ni los del QTF mientras que la PT sí presenta menores induraciones en niños pequeños<sup>132</sup>.

En nuestra serie no encontramos diferencias estadísticamente significativas en la edad de los niños que presentaron resultados indeterminados en comparación con el resto de la población. Sin embargo, y a pesar de no encontrar significación, estos pacientes eran de menor edad que el resto ( $3,51 \pm 2,99$  años frente a  $4,78 \pm 3,7$  años;  $p=0,12$ ) (ver tabla 18, pg 82). Igualmente, no se observó

una potente correlación entre la edad y la cantidad de IFN- $\gamma$  en el mitógeno ( $r=0,135$ ) (ver figura 27, pg 83).

Si bien es verdad que la mayor parte de los datos disponibles hasta el momento señalan que los IGRAS son iguales o incluso más sensibles que la PT en niños pequeños<sup>113,128</sup>, teniendo en cuenta lo contradictorio de algunos datos publicados en la actualidad respecto a la influencia de la edad en la capacidad de respuesta linfocitaria en los distintos tests comercializados, debemos ser prudentes a la hora de interpretar nuestros resultados.

Con los datos disponibles hasta el momento en población pediátrica es difícil extraer conclusiones y por tanto, son necesarios más estudios que incluyan un número suficiente de niños en los cuales se analice su respuesta tras la exposición a fitohemaglutinina. Igualmente sería interesante investigar la posibilidad de disminuir el punto de corte de producción de IFN- $\gamma$  en el control positivo o mitógeno a la hora de interpretar el QTF en este colectivo de niños pequeños, analizando claramente su posible repercusión en la disminución de la especificidad de la prueba.

#### **5.3.4. Influencia del estado nutricional y de las infecciones activas en la respuesta del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®.**

Como hemos observado tanto en nuestros pacientes como en otras series de niños inmigrantes y adoptados realizadas en España<sup>57,140,176</sup>, un porcentaje importante de los mismos presenta una deficiente situación nutricional constatada en la primera evaluación realizada al llegar a nuestro país. El estado nutricional de estos niños es comparativamente peor que el que presenta la población pediátrica española<sup>176</sup>. Cilleruelo y cols. observan como hasta el 76% de los niños procedentes de adopción internacional presenta desnutrición con IN inferior al 90%<sup>57</sup>. En nuestra serie, el porcentaje de desnutrición no es tan elevado, fundamentalmente porque incluye también pacientes inmigrantes que presentan una mejor situación nutricional que los adoptados.

Debido a que la malnutrición ha sido descrita como causa que favorece la aparición de resultados falsos negativos de la PT<sup>27</sup>, sería interesante conocer si influye de igual manera en el resultado de los IGRAS. Si ésto fuese así y considerando que la malnutrición puede condicionar un peor funcionamiento inmunológico, sería esperable encontrar un mayor porcentaje de resultados indeterminados por escasa activación linfocitaria en el control positivo en los niños malnutridos.

A pesar de la prevalencia de malnutrición descrita en niños procedentes de países con alta endemia de TB, tan solo 3 estudios analizan su influencia en los resultados de los IGRAS en población pediátrica<sup>102,113,121</sup>. Son llamativos los datos observados en una serie de niños africanos que incluye pacientes infectados por el VIH y con un importante grado de desnutrición<sup>113</sup>. Los autores observan como TSPOT presenta una sensibilidad algo disminuida en los menores de 36 meses (sensibilidad del 85%), en niños infectados por el VIH (sensibilidad del 73%) y en aquellos con un peso inferior a menos 2 desviaciones estándar (DE) para su edad (sensibilidad del 78%) en comparación con los niños mayores y sanos. Sin embargo TSPOT ofrece comparativamente con la PT un incremento significativo de la sensibilidad en estos mismos grupos de población (sensibilidad de la PT en < 36 meses del 51%, en VIH del 36% y en niños con peso inferior a -2 DE del 44%). Nicol y cols. tampoco señalan diferencias significativas importantes en la respuesta del TSPOT en función del estado nutricional<sup>102</sup>. Un estudio realizado en 105 niños en India no encuentra correlación entre la respuesta del QTF y la situación nutricional de los niños incluidos en el estudio, el 57% de los cuales presentaba un peso para la edad inferior a -2 DE<sup>121</sup>.

Los datos observados en nuestro trabajo apoyan la escasa evidencia encontrada hasta el momento y parece por tanto que la sensibilidad de los IGRAS no se interfiere por el estado nutricional de los niños.

Además de la situación nutricional, hemos comentado con anterioridad la probable influencia de la edad o de la inmunodepresión en los resultados de estos tests, ya que al tratarse de pruebas de inmunodiagnóstico, otros factores que influyan en el funcionamiento linfocitario o en la producción de citocinas podrían hipotéticamente modificar los resultados. Así, observamos por ejemplo como algún autor ha comprobado que los niños con atopia producen menor cantidad de IFN- $\gamma$  tras estímulo con fitohemaglutinina que los controles sanos<sup>177</sup>. Igualmente se ha descrito una afectación en la producción de citocinas por parte de los linfocitos T en lactantes con infecciones virales respiratorias recurrentes<sup>178</sup>.

La presencia de infecciones virales, bacterianas o parasitarias activas así como la administración reciente de vacunas de virus vivos produce una alteración en la respuesta inmune celular que puede originar resultados falsos negativos de la PT<sup>27</sup>.

Dada la alta prevalencia de patología infecciosa activa en niños procedentes de países de alta incidencia de TB, nos planteamos analizar si éstas podrían tener alguna influencia en los resultados del QTF. No encontramos un mayor porcentaje de resultados indeterminados en los niños que presentaban infecciones parasitarias, virales o bacterianas activas. Sin embargo Chun y cols. observan un porcentaje superior de resultados indeterminados en niños con enfermedades infecciosas distintas a la ETB respecto a los niños asintomáticos de su serie, sugiriendo que estos pacientes podrían presentar una respuesta inmune alterada que condicionase resultados indeterminados. En todos estos pacientes la PT fue negativa<sup>25</sup>.

Nuestros datos sugieren que la realización del QTF podría ofrecer algún beneficio en comparación con la PT en esta población de niños inmigrantes y adoptados que asocian con frecuencia malnutrición y patologías infecciosas importadas activas. Es importante destacar la escasez de estudios que analizan la interferencia de estos factores en la población pediátrica estudiada, siendo



necesario por tanto considerarlos para dilucidar la utilidad de los IGRAS en niños malnutridos y con infecciones activas distintas de la TB.

### **5.3.5. Producción del interferón-gamma en los pacientes con infección tuberculosa latente y enfermedad tuberculosa.**

Analizando los resultados positivos del QTF, no observamos una mayor producción de IFN- $\gamma$  en pacientes diagnosticados de ETB respecto a aquellos diagnosticados de ITBL (*ver tabla 21, pg 85*). Es decir, que el QTF no discrimina entre infección latente y enfermedad como ya habían descrito otros autores<sup>100,128</sup>.

Sin embargo, recordemos que en nuestra serie los pacientes diagnosticados de ETB presentaban un mayor porcentaje de resultados indeterminados (8,8%) respecto al resto de pacientes (3,5%), a pesar de que este hecho no alcanzó significación estadística ( $p=0,09$ ) (*ver pg 84*). Datos previos comunicados apoyan este aspecto y también señalan un porcentaje significativamente mayor de resultados indeterminados en niños con ETB respecto a niños sanos y con ITBL<sup>179,180</sup>.

¿Podrían algunos niños presentar una producción disminuida de IFN- $\gamma$  tras la exposición a micobacterias, y por tanto asociar una mayor susceptibilidad para desarrollar la enfermedad tras la infección? Esto explicaría la existencia de un porcentaje elevado de resultados indeterminados en población con ETB.

Estudios realizados en pacientes con ETB activa observan una producción reducida de citocinas (especialmente IFN- $\gamma$ ) por parte de los linfocitos Th1 tras cultivar los mismos con estimulantes inespecíficos y con el derivado proteico purificado (PPD)<sup>83,181,182</sup>. Sin embargo otros autores no han demostrado un peor funcionamiento *in vitro* de los linfocitos Th1 ni una deficiente producción de citocinas, incluida el IFN- $\gamma$  en niños y adultos jóvenes con ETB activa<sup>183,184</sup>, aunque si observan como determinados patrones de producción de citocinas tras la

infección por *MTB* confieren una mayor susceptibilidad al desarrollo de la enfermedad<sup>183</sup>.

Recientemente ha sido descrito el síndrome de “Susceptibilidad Mendeliana a las infecciones micobacterianas”, el cual confiere predisposición a padecer infecciones diseminadas por micobacterias poco patógenas como el BCG o determinadas micobacterias ambientales, pero también a enfermedad por *MTB*<sup>185,186</sup>. Hasta 13 mutaciones genéticas han sido descritas en este síndrome, que afectan fundamentalmente a las citoquinas tipo 1 (IFN- $\gamma$ , IL-12, IL-23)<sup>185</sup>, siendo una característica común la incapacidad de los pacientes de producir IFN- $\gamma$  *in vitro*<sup>186</sup>. Existe una importante heterogeneidad de fenotipos, encontrando desde formas graves y recurrentes de infecciones micobacterianas hasta individuos asintomáticos portadores de mutaciones<sup>185,186</sup>. Por ello, algunos autores postulan que quizás, la presencia de un defecto genético predispone a ciertos sujetos a padecer ETB<sup>186,187</sup>, estimando que hasta el 50% de las formas diseminadas en niños pudiesen deberse a una susceptibilidad mendeliana<sup>187</sup>. Sin embargo, en niños con ETB no se suele estudiar la presencia de alteraciones en los genes que codifican citocinas tipo 1, dado que la mayor parte de estos pacientes se encuentran además en países con escasos recursos económicos<sup>186</sup>. Recientemente se han descrito mutaciones del gen implicado en la síntesis de cadenas de IFN- $\gamma$  como la mutación en homocigosis para el alelo A+874 que condicionaría una mayor susceptibilidad para desarrollar infecciones por micobacterias<sup>188,189</sup>. Igualmente, esta misma mutación parece determinar un genotipo que condiciona una peor respuesta inmunológica tras la vacunación con BCG en determinados individuos con menor porcentaje de desarrollo de cicatriz tras la vacunación<sup>188</sup>.

Son por tanto necesarios nuevos estudios que analicen la existencia de estas mutaciones en niños con ETB activa y esclarezcan la posible influencia de una susceptibilidad genética en el desarrollo de enfermedad tras la primoinfección y en la aparición de resultados indeterminados de los IGRAS en niños enfermos.

### **5.3.6. Resultados discordantes.**

#### **5.3.6.1. Resultados discordantes prueba de tuberculina positiva – Quantiferon-TB Gold Test In Tube® negativo.**

Un fenómeno descrito en la mayor parte de estudios realizados tanto en adultos como en población pediátrica es la aparición de un porcentaje importante de resultados discordantes con PT positiva e IGRA negativo en pacientes diagnosticados de ITBL<sup>101,128,132,175</sup>. Lighter y cols. observan como solo el 23% de los niños con PT positiva diagnosticados de ITBL presentan resultados positivos del QTF<sup>175</sup>. En nuestra serie hasta el 52% de los niños diagnosticados de ITBL presentaban QTF negativo (*tabla 26, pg 89*), porcentaje similar al observado en otros estudios realizados en población pediátrica<sup>128,132</sup>. Este fenómeno no parece observarse en pacientes con ETB, en los cuales la concordancia de resultados entre los IGRAS y la PT es en general muy buena<sup>121,128</sup>.

Podríamos postular dos posibles teorías que expliquen este fenómeno. Que los IGRAS fuesen menos sensibles en el diagnóstico de la ITBL o que fuesen más específicos. Esto último parece más probable ya que los resultados discordantes se observan fundamentalmente en población vacunada, sugiriendo la presencia de falsos positivos por la vacuna con BCG<sup>118,122,128,158,160</sup>, y dado que la especificidad del Mantoux en adultos vacunados no expuestos es tan solo del 50%<sup>118,119</sup>.

La concordancia entre los resultados obtenidos realizando QTF y los obtenidos mediante TSPOT en niños diagnosticados de ITBL y de ETB es muy buena<sup>132,134</sup>. En pacientes sin BCG en estudios realizados en países europeos con baja incidencia de TB se describe muy buena correlación entre el QTF y la PT, que llega hasta el 95%, con un aumento llamativo de resultados discordantes PT (+) / QTF (-) al añadir el factor de la vacuna BCG<sup>190</sup>.

Un dato observado en nuestro estudio que apoyaría la teoría de la mejor especificidad de los IGRAS en el diagnóstico de la ITBL es la presencia de

induraciones del Mantoux de menor tamaño en niños con ITBL y QTF negativo ( $12,7 \pm 4,7$  mm), en comparación con aquellos con QTF positivo ( $17,9 \pm 5,7$  mm) (ver tabla 27, pg 90), ya que es bien conocido que las induraciones del Mantoux producidas tras la vacunación BCG o tras la infección por otras micobacterias suelen ser menores a las observadas en pacientes infectados por *MTB* y no suelen exceder los 15 mm<sup>149</sup>. Parece por tanto que existe una mayor posibilidad de infección por *MTB* cuanto mayor es el diámetro de induración del Mantoux. Por ello algunos autores sugieran que en población vacunada con BCG se deba incrementar el dintel de lectura a 15 mm.

Bianchi publica en 2009 una serie de pacientes menores de 16 años diagnosticados de ITBL. Aquellos con QTF positivo presentan de forma estadísticamente significativa mayores induraciones de la PT respecto a los niños con QTF negativo<sup>128</sup>. Además en estos niños con ITBL, aquellos con resultados de QTF negativos presentaban de manera estadísticamente significativa mayor porcentaje de vacunación BCG<sup>128</sup>, apoyando estos resultados la presencia de resultados falsos positivos de la PT. Estos datos son superponibles a lo que observamos en nuestro estudio. Algún autor sugiere que quizás no sería necesario tratar a todos los niños que presenten Mantoux positivo si están vacunados con BCG y no muestran sintomatología ni refieren exposición a *MTB*<sup>25</sup>. Sin embargo, la alta especificidad del QTF resulta en una elevada probabilidad de que un resultado positivo refleje una verdadera infección<sup>132</sup> lo cual es suficiente para iniciar una terapia<sup>25</sup>.

A pesar de lo anteriormente expuesto, es difícil diferenciar si una PT menor de 15 mm es o no un falso positivo ya que, aunque en general las induraciones superiores se asocian a IGRAS positivos, también se pueden observar IGRAS positivos con induraciones inferiores a 15 mm<sup>128</sup>. En nuestra serie el 22,2% de los niños con induraciones ente 5 y 9 mm y el 43,4% de aquellos con induraciones entre 5 y 14 mm presentaron QTF positivo (ver pg 88).

No debemos olvidar como, en los niños vacunados con BCG sin contacto con ETB de nuestra muestra, al aumentar el punto de corte de lectura del Mantoux a 15 mm, la concordancia en los resultados de ambas pruebas mejoró solo levemente ( $K=0,45$  respecto a  $K=0,313$ ) (ver pg 94).

Por este motivo, el incrementar el punto de corte de lectura del Mantoux a 15 mm en población vacunada con BCG podría dar lugar a una reducción de la sensibilidad de la prueba que no parecería razonable, dado que el objetivo de cualquier test utilizado para cribado poblacional debe ser detectar el mayor número de casos y gozar por tanto de una excelente sensibilidad.

A pesar del número significativamente superior de resultados discordantes PT (+) / QTF (-) en población vacunada, observamos como el 27,5% de las ITBL en niños sin cicatriz de BCG presentan resultados negativos del QTF (ver pg 92). Connell y cols. advierten como un porcentaje importante de resultados discordantes con IGRA negativo y Mantoux superior o igual a 15 mm ocurre incluso en ausencia de vacunación con BCG<sup>132</sup>. Recordemos que este fenómeno no lo observamos en niños diagnosticados de ETB. ¿Podría deberse a la presencia de otros resultados falsos positivos de la PT no debidos a la vacunación con BCG (micobacterias atípicas, errores de lectura...) o quizás el QTF no es tan sensible como la PT, aunque sea más específico?

La discordancia PT (+) / QTF (-) se explica desde un punto de vista inmunológico por que la PT se basa en una reacción de hipersensibilidad tipo IV que mide tanto la respuesta efectora como las células T memoria mientras que los IGRAS, con un periodo de incubación más corto, miden preferentemente las células T efectoras. Por tanto, una respuesta positiva del Mantoux con IGRA negativo puede indicar no solo resultados falsos de la PT por vacunación con BCG sino también infecciones por *MTB* muy remotas, con menor riesgo de evolucionar a ETB, mientras que un resultado positivo de IGRA parece indicar una infección reciente<sup>128,160,190,191</sup>. Lighter y cols. encuentran una correlación entre la cantidad de IFN- $\gamma$  producido y la antigüedad del contacto, siendo menores la cifras de esta

citocina en niños mayores y adolescentes con exposición a *MTB* poco reciente<sup>175</sup>. Este autor describe 5 casos en adolescentes con PT positiva e IGRA negativo que presentaban en la radiografía de tórax lesiones calcificadas. Sin embargo, aunque estas lesiones observadas en pacientes con QTF negativo representen infecciones antiguas, es muy importante considerar que pueden evolucionar a ETB y deberían por ello recibir tratamiento.

Una respuesta PT positiva con IGRA negativo puede quizás indicar también una infección resuelta, es decir no latente. La PT positiva sería por tanto reflejo de una estimulación de los linfocitos T memoria mientras que la ausencia de carga bacilar no induciría la activación de los linfocitos T efectores y por tanto la producción de IFN- $\gamma$ . En pacientes expuestos a *MTB* y con resultados positivos de PT y TSPOT que reciben tratamiento se describe una negativización de los resultados del TSPOT mientras que en aquellos que no son tratados no se observa este fenómeno. La negativización del TSPOT en estos pacientes probablemente refleje una disminución de la carga bacilar inducida por el tratamiento<sup>129</sup>.

Sin embargo, la técnica de realización del QTF también puede modificar el resultado y estudios en adultos observan como cuando la incubación del plasma con los antígenos de *MTB* se prolonga durante 6 días y no solo 24 horas como recomienda el fabricante la correlación entre los resultados de los IGRAS y de la PT mejora significativamente aumentando el porcentaje de resultados positivos de los IGRAS<sup>192,193</sup>.

Por todo ello, debemos de ser prudentes con los datos disponibles actualmente a la hora de interpretar un resultado IGRA negativo que se acompañe de PT positiva dado que la sensibilidad de estos nuevos tests, aunque es excelente, no alcanza el 100%. Las guías clínicas de utilización del QTF concluyen que un resultado negativo, sobre todo ante situaciones de sospecha clínica o de inmunodepresión, nunca descarta al 100% la presencia de ETB<sup>100</sup>.

Será necesario realizar un seguimiento a largo plazo de aquellos niños con PT positiva y QTF negativo en los cuales no se instaure profilaxis para comprobar si evolucionan a ETB con mayor frecuencia que en aquellos en los que sí se administre<sup>194</sup>.

### **5.3.6.2. Resultados discordantes prueba de tuberculina negativa – Quantiferon-TB Gold Test In Tube® positivo.**

El hallazgo de resultados discordantes debidos a PT negativa con IGRA positivo no es tan frecuente, representando solo entre el 3 y el 10% de los casos con PT negativa en niños asintomáticos<sup>121,128,132</sup>. En la revisión de la literatura encontramos descritos pocos casos similares, algunos de los cuales fueron finalmente diagnosticados de ETB<sup>25,105,128</sup>. En nuestra serie tan solo 3 de los 459 niños (0,6%) presentó resultado discordante PT (-) / QTF (+) (ver tabla 22, pg 86). Estos resultados pudiesen estar reflejando la presencia de infecciones muy recientes en las cuales como hemos descrito, la PT parece ser menos sensible que el QTF<sup>128,160,190,191</sup>. Sin embargo no fue posible realizar seguimiento posterior de estos niños, con repetición de la PT y del QTF, por lo cual no podemos concluir si se trató de resultados falsos positivos del QTF o falsos negativos de la PT.

Al analizar los niños con resultados positivos del QTF, Bianchi y cols. observan como aquellos que tenían PT negativa eran de menor edad que los que tenían PT positiva<sup>128</sup>, sugiriendo este hecho la presencia de resultados falsos negativos de la PT debidos probablemente al peor funcionamiento del sistema inmune en niños pequeños con disminución de las reacciones de hipersensibilidad tipo IV<sup>84</sup>. Por tanto, quizás los IGRAS podrían ser algo más sensibles que la PT en esta población de niños más pequeños<sup>128</sup>.

Otro estudio observa como 3 casos de 105 niños presentaron PT negativa y QTF positivo. Estos tres niños padecían infecciones activas (sarampión, encefalitis linfocitaria y fiebre sin foco)<sup>121</sup> que por otra parte son posibles causas de falsos

negativos del Mantoux<sup>27</sup>. Los autores discuten en profundidad estos casos, comentando que ninguno evolucionó a ETB en los 6 meses posteriores sin tratamiento, no descartándose tampoco la probabilidad de falsos positivos del QTF<sup>121</sup>.

Por tanto, aún existe poca evidencia que pueda determinar la actitud a tomar en casos de PT negativa con IGRA positivo y las guías clínicas recomiendan que ante el riesgo de ETB y resultados dudosos de la PT, especialmente si se dispone de un resultado de IGRA positivo se instaure tratamiento<sup>27,195</sup>.

### **5.3.7. Resultados negativos de la prueba de tuberculina y del Quantiferon-TB Gold Test In Tube® en un caso de meningitis por *Mycobacterium tuberculosis*.**

Los escasos datos disponibles también parecen señalar que los IGRAS muestran la misma sensibilidad en la enfermedad extrapulmonar que en las formas pulmonares, con la misma producción de IFN- $\gamma$  y la misma activación linfocitaria tras estímulo con *ESAT-6* y *CFP-10*<sup>196,197</sup>.

En nuestra serie una paciente con PT y QTF negativos presentó una meningitis tuberculosa confirmada microbiológicamente. Respecto a la utilización del QTF para el diagnóstico de meningitis tan solo encontramos 2 artículos publicados, en los cuales se estima una sensibilidad del QTF del 78%, siendo más sensible que la baciloscopia, el cultivo o la PCR de *MTB* realizadas en LCR<sup>198,199</sup>. Encontramos escasas publicaciones sobre TSPOT para el diagnóstico de meningitis tuberculosa, aunque todas ellas muestran que la prueba presenta una mayor sensibilidad (62% - 100%) que las técnicas diagnósticas convencionales como el cultivo o la baciloscopia<sup>165,166,197,200,201</sup>, y superior a la descrita en la literatura para la PT<sup>202</sup>. Algunos autores señalan además que la realización de TSPOT en LCR en lugar de en plasma podría mejorar la sensibilidad<sup>166,198,201,203</sup>, y nos permitiría diferenciar la ITBL de la ETB del Sistema Nervioso Central<sup>166</sup>.



En niños, la menor capacidad de contención del bacilo en los ganglios linfáticos pulmonares tras la primoinfección es la principal responsable de la aparición de formas diseminadas de ETB<sup>84</sup>, en las cuales se observa Mantoux negativo hasta en un 50% de los casos<sup>202</sup>. Nuestra paciente presentó un resultado negativo inicial con buena producción de IFN- $\gamma$  tras estimulación con fitohemaglutinina, y un resultado positivo tras 6 semanas de evolución. Dado que las formas miliares y meníngeas de ETB se desarrollan precozmente tras la primoinfección<sup>202</sup> un porcentaje de los resultados negativos de la PT observados en las formas diseminadas parecen deberse a una rápida diseminación del bacilo, apareciendo el efecto “periodo ventana”.

Por todo ello y, ante la sospecha clínica de ETB, sobre todo en formas diseminadas o meníngeas debemos obviar los resultados negativos de los IGRAS e instaurar siempre tratamiento.

### **5.3.8. Quantiferon-TB Gold Test In Tube® y riesgo de tuberculosis.**

Uno de los resultados más interesantes observados en nuestro estudio es el hecho de que el QTF presenta una excelente correlación con la PT en aquellas situaciones de riesgo, en las cuales es más probable la existencia de una verdadera ITBL, como por ejemplo en niños no vacunados con BCG y expuestos a un adulto bacilífero (*ver tabla 32, pg 95*). La correlación disminuye significativamente en pacientes con bajo riesgo de infección (no expuestos que están vacunados con BCG), con un elevado porcentaje de resultados positivos de la PT que sugieren la presencia de probables falsos positivos del Mantoux y una mayor especificidad del QTF en el diagnóstico de la ITBL.

Diversos estudios demuestran que los IGRAS son mejores predictores del riesgo real de padecer TB que la PT en adultos y también en niños<sup>25,118,130,196</sup> infravalorando en ocasiones la PT el riesgo de TB en niños<sup>130</sup> mientras que en vacunados con BCG sobrediagnostica ITBL por exceso de falsos positivos<sup>25,118</sup>.

Los resultados de los IGRAS han demostrado su utilidad en el diagnóstico de la ITBL en niños tras exposición a enfermos bacilíferos, ya que se correlacionan mejor que la PT con la intensidad y con la duración de la exposición al *MTB*<sup>25,26,106,175,195</sup>.

En Octubre del 2009 Metcalfe y cols. publican un estudio realizado sobre 660 adultos con sospecha de ETB. Los autores establecen una escala de riesgo en función de hallazgos clínicos, radiológicos y epidemiológicos que clasifica a los pacientes en riesgo bajo, moderado o alto de padecer ETB activa. La concentración del IFN- $\gamma$  se correlaciono con un mayor riesgo de padecer ETB. Dicha concentración permitió mejorar la escala de riesgo utilizada y ayudó al diagnóstico<sup>196</sup>.

#### **5.4. ¿SON ADECUADOS LOS PUNTOS DE CORTE ESTABLECIDOS ACTUALMENTE PARA LA INTERPRETACIÓN DEL MANTOUX?**

##### **5.4.1. Interpretación de la prueba de tuberculina en niños sin cicatriz de BCG.**

La sensibilidad de la PT en niños pequeños no ha sido bien definida<sup>173</sup> y la especificidad varía en función del grado de exposición a micobacterias ambientales así como de la administración de vacunación BCG, dosis recibidas, administración adecuada de la vacuna...<sup>173</sup>. Por ello las distintas guías clínicas establecen diversos puntos de corte de lectura de la PT en función de la situación clínica del paciente.

En nuestro país, la SEIP establece tres puntos de corte:  $\geq 5$  mm en niños con exposición a *MTB*, inmunodepresión, sospecha clínica de ETB o conversión de una PT negativa previa;  $\geq 10$  mm para los demás niños sin factores de riesgo y  $\geq 15$  mm para niños que han recibido BCG en los últimos tres años, aunque en

situación de riesgo de TB se aconseja obviar el antecedente de vacunación con BCG<sup>27</sup>.

Uno de los objetivos de esta tesis doctoral ha sido, utilizando el QTF como prueba diagnóstica referente y mediante curva ROC estudiar la sensibilidad y especificidad que ofrecen los distintos puntos de corte propuestos por la SEIP.

Según nuestros datos, en niños sin cicatriz de BCG un Mantoux  $\geq 5$  mm presenta una excelente especificidad (93,6%) y sensibilidad (100%) (ver pg 95). En un análisis similar al nuestro, Bakir y cols. estudian la sensibilidad y especificidad de la PT en 979 niños en contacto con adultos bacilíferos utilizando TSPOT como “referente estándar”. Los autores encuentran que, la sensibilidad de la PT en los lactantes menores de 2 años utilizando un punto de corte igual o superior a 10 mm es de tan solo el 66%<sup>173</sup>. Al disminuir el punto de corte a 5 mm, aumenta la sensibilidad a 78%, aunque continua no obstante siendo inferior a la observada en niños mayores<sup>173</sup>.

Este hecho apoyaría la hipótesis de considerar positivas, las induraciones superiores a 5 mm en lactantes y niños menores no vacunados pertenecientes a poblaciones de riesgo como inmigrantes o adoptados, ya que los niños pequeños parecen tener una peor respuesta retardada de hipersensibilidad tipo IV, con mayor porcentaje de falsos negativos de la PT<sup>27,84</sup>, a la par que un mayor riesgo de progresión a ETB tras la primoinfección<sup>23</sup>. Recordemos que este punto de corte ya se utiliza en otros supuestos de riesgo como en casos de exposición a enfermo bacilífero, inmunosupresión o conversión de un Mantoux previamente negativo<sup>27</sup>. Además, un porcentaje elevado de los pacientes incluidos en nuestro estudio proceden de países con altas tasas de TB. Por tanto, un resultado positivo de la PT en niños sin vacunación BCG y procedentes de estos países tiene una alta probabilidad de reflejar una verdadera infección.

En 1992 el consenso nacional para el control de la TB realizó una definición epidemiológica de “caso de infección” cuando la PT presentaba induraciones

superiores a 5mm basándose en la situación epidemiológica en España a finales de la década de los 80<sup>204</sup>. Este mismo consenso estimó el dintel de 5 mm como provisional hasta que pudiesen elaborarse histogramas de frecuencias de positividades del Mantoux en estudios poblacionales, para establecer un dintel en nuestro medio.

Posteriormente, un estudio más amplio realizado en 51.877 escolares elaborado por la Dirección de Salud Pública de Cataluña y basado en datos poblacionales entre el año 1992 y 1996, estimó que el dintel óptimo de la positividad de la PT en niños se situaría entre 12 y 13 mm con una especificidad del 100% y un valor predictivo positivo del 96,7%, según la situación epidemiológica en Cataluña en la década de los 90<sup>149</sup>. Los mismos autores sin embargo, aconsejan utilizar el dintel de 10 mm, que abarcaría con mayor seguridad a todos los verdaderamente positivos.

La situación epidemiológica actual en nuestro país nada tiene que ver con aquella en la cual se realizaron estos estudios epidemiológicos. El aumento progresivo de la inmigración procedente de países en vías de desarrollo ha dado lugar a altas tasas de TB en este colectivo. Los hallazgos de sensibilidad de la PT observados utilizando como referente al QTF en niños inmigrantes sin cicatriz BCG nos hacen plantearnos si quizás en poblaciones de riesgo fuese correcto ese dintel de 5 mm propuesto inicialmente<sup>204</sup>.

Sin embargo debemos considerar otro aspecto en contra de la disminución del punto de lectura a 5 mm. En países desarrollados con menor incidencia de TB las infecciones por micobacterias ambientales parecen estar aumentando<sup>76</sup> y además, en niños autóctonos españoles sin factores de riesgo no está indicada la realización rutinaria de una PT, debido a su menor prevalencia de TB<sup>195,205</sup>. La disminución del punto de corte a 5 mm en niños procedentes de países con baja endemia de TB que no refieran contacto con adulto bacilífero ni presenten sintomatología probablemente no supondría una sustancial mejora de la sensibilidad ni del valor predictivo positivo de la prueba, el cual depende

fundamentalmente de la prevalencia de la enfermedad en la población, y empeoraría de manera evidente la especificidad, dando lugar a falsos positivos del Mantoux.

Por todo ello solamente en poblaciones de riesgo, como por ejemplo niños inmigrantes y procedentes de adopción internacional, sin vacunación BCG podrían considerarse positivas induraciones iguales o superiores a 5 mm. Valorando el incremento de infecciones por micobacterias ambientales y la menor prevalencia de TB en países desarrollados como el nuestro, en niños españoles sin factores de riesgo se deben mantener las recomendaciones de la SEIP interpretando como positivas aquellas induraciones iguales o superiores a 10 mm.

#### **5.4.2. Interpretación de la prueba de tuberculina en niños con cicatriz de BCG.**

En nuestros pacientes con cicatriz de BCG, la especificidad del Mantoux utilizando como corte de positividad induraciones superiores o iguales a 10 mm es de tan solo el 86%. Sin embargo, si aumentamos el punto de corte de positividad de la PT a 15 mm con el propósito de mejorar la especificidad, aunque logramos el objetivo (especificidad 97%; IC95% 92,4-98,2%) la sensibilidad de la prueba se reduce de manera importante (del 82,6% al 60,9%) (ver pg 96). Además en niños no expuestos a *MTB* y con cicatriz BCG al aumentar el punto de corte de lectura del Mantoux a 15 mm la concordancia en los resultados de la PT y del QTF mejora tan solo levemente ( $K=0,534$  respecto a  $K=0,335$ ) (ver pg 94 y 95).

A pesar de que en 2003 la SEIP establece en su documento de consenso el punto de corte de 15 mm para vacunados en los últimos 3 años<sup>27</sup>, en el documento posterior publicado en 2006 por esta misma Sociedad se establece un punto de corte de 10 mm en casos de riesgo (inmigrantes, adoptados, institucionalizados, hijos de adultos pertenecientes a colectivos de riesgo...)<sup>72</sup>. La Asociación Americana de Pediatría (AAP) y la Sociedad Torácica Americana (ATS) reconocen también un punto de corte de 10 mm para estos mismos casos<sup>150,206</sup>.

Debemos considerar que en la práctica clínica habitual en muchas situaciones es imposible determinar la verdadera situación vacunal del niño, ya que con frecuencia no aporta documento de vacunación, y además no tenemos garantías de su correcta administración. En caso de presentar cicatriz pero no cartilla de vacunación, es igualmente difícil reconocer si aquella ha sido administrada hace más de 3 años.

Interpretar como positivas induraciones superiores o iguales a 10 mm en vacunados con BCG podría dar lugar a una sobreestimación de casos, siendo esta sobreestimación aún mayor en pacientes revacunados<sup>173</sup>. Sin embargo, el aumento del punto de corte a 15 mm como solución para mejorar la especificidad, a tenor del análisis de nuestros resultados, podría suponer dejar de diagnosticar un porcentaje elevado de verdaderos casos.

#### **5.4.3. Interpretación del *Quantiferon-TB Gold Test In Tube*® midiendo la concentración del interferón-gamma y utilizado como referente la prueba de tuberculina.**

Para analizar los resultados del QTF se han establecido como positivos aquellos que presenten valores iguales o superiores a 0,35 UI/L de IFN- $\gamma$  tras estimulación con antígenos micobacterianos<sup>100</sup>. Un estudio reciente realizado en adultos con ETB confirmada mediante cultivo observa que con el punto de corte en 0,35 UI/L de IFN- $\gamma$  la sensibilidad es tan solo del 72% y la especificidad del 47%, el VPP del 13% y el VPN del 89%<sup>196</sup>. Los autores señalan como encuentran una asociación entre la concentración de IFN- $\gamma$  y el riesgo de padecer ETB activa, presentando un 51% de sus casos concentraciones superiores a 1 UI/L. Igualmente observan como para concentraciones iguales o superiores a 10 UI/L se incrementa en un 41% el riesgo de padecer ETB activa respecto al punto de corte recomendado en 0,35 UI/L.

La baja sensibilidad del QTF observada en este estudio se podría explicar además por la inclusión de adultos que asociaban condiciones potencialmente inmunosupresoras (cáncer, diabetes, tratamiento con determinados fármacos...).

La mayor parte de nuestros niños con QTF positivo y PT positiva presentaban cifras muy superiores a 0,35 UI/L de IFN- $\gamma$ . La media de IFN- $\gamma$  en los niños con ETB activa y QTF positivo fue de  $9,15 \pm 8,9$  UI/L (ver tabla 21, pg 85). Tan solo el 12,9% (8 de 62 niños con ETB excluyendo los 6 resultados indeterminados) presentaba cifras inferiores a 1UI/L de IFN- $\gamma$  (ver pg 98). Diversos autores observan al igual que nosotros que una mayor cantidad de producción de IFN- $\gamma$  se asocia con induraciones mayores del Mantoux<sup>128</sup> y con un riesgo significativamente mayor de padecer ETB<sup>196</sup>.

Son precisos por tanto nuevos estudios que establezcan la sensibilidad, la especificidad, el VPP y el VPN del QTF en niños analizando puntos de lectura distintos a 0,35 UI/L. Hasta disponer de mayores evidencias, debemos seguir manteniendo el dintel de positividad recomendado actualmente<sup>100</sup>.

## **5.5. RECOMENDACIONES DE USO DEL QUANTIFERON-TB GOLD TEST IN TUBE® EN NIÑOS EN LA PRÁCTICA CLÍNICA DIARIA**

La correcta interpretación de un IGRA negativo ante una PT positiva es un reto al que nos comenzamos a enfrentar en la práctica clínica diaria. Hasta el momento, en ausencia de una evidencia clara que confirme que nos encontramos ante un falso positivo de la PT, la mayor parte de clínicos optan por pautar un tratamiento con isoniacida independientemente del resultado del IGRA<sup>132</sup>.

Ya en el año 2006 las guías clínicas del Instituto Británico para la salud y la excelencia clínica (*Nacional Institute for health and clinical excellence, NICE*), recomiendan una estrategia en dos pasos para el diagnóstico de la ITBL, realizando en un primer lugar una PT seguida de un IGRA en aquellos casos con PT positiva<sup>195</sup>.

El análisis coste-beneficio de la realización de una prueba de screening depende del contexto epidemiológico en el cual se realice. Las guías británicas concluyen que en países con prevalencias de TB menores del 10%, la realización de un cribado poblacional no es necesario<sup>195</sup>. La SEIP no recomienda realizar en niños sanos españoles una PT rutinaria en ausencia de factores de riesgo<sup>27</sup>. Sin embargo, para prevalencias entre el 10 y el 40% los resultados del análisis económico señalan como la mejor estrategia coste-beneficio sería realizar una PT seguida en casos dudosos de un IGRA confirmatorio<sup>195</sup>. Se estima que en poblaciones con prevalencias de ITBL entre el 10 y el 20% una estrategia “*double screening*” tendría un coste de 17,5 £ (equivalente a 19,5 €) estimado por año de vida ganado (*quality-adjusted life-year gained QUALY*) frente a 60 £ (equivalente a 67,2 €) utilizando solo un IGRA. La realización exclusiva de una PT, sin confirmar su resultado mediante un IGRA sería la peor opción con un coste-beneficio superior a las dos estrategias anteriores<sup>195</sup>. Otros datos publicados apuntan en esta misma dirección, siendo la estrategia “*double screening*” la mejor opción coste-beneficio en países como el nuestro<sup>114,115</sup>. Nuestros resultados apoyan igualmente la utilidad de un “*double screening*”, dado que el QTF presento una excelente sensibilidad en le diagnóstico de la ETB, no dejando de diagnosticar ningún caso que hubiese detectado la PT. Siendo tan sensible como la PT demostró una buena especificidad en casos de bajo riesgo de padecer TB y presentó resultados negativos en niños con PT positiva que estaban vacunados con BCG y sin contacto conocido con TB.

Estudios publicados posteriormente comprueban como la realización de un cribado de ITBL en dos pasos siguiendo las recomendaciones de las guías clínicas del Instituto Británico *NICE* daría como resultado una disminución de hasta un 85% en la quimioprofilaxis administrada en niños y adultos<sup>101,194</sup>. En Alemania se estima que el numero de contactos a tratar para evita un caso de ETB sería de 50 con PT y de 18 con TSPOT<sup>114</sup>. Sin embargo, los autores concluyen de manera juiciosa que será necesario realizar un seguimiento a largo plazo de estos niños que no recibieron profilaxis para comprobar si evolucionan o no a ETB<sup>194</sup>. Un estudio



longitudinal reciente realiza el seguimiento durante 2 años de 601 pacientes expuestos a *MTB*. Se ofreció profilaxis solo a aquellos casos con QTF positivo, rechazándola 41 pacientes. Los autores observan como 6 de estos 41 casos evolucionaron a ETB (tasa de progresión de ITBL a ETB del 14,6%). Sin embargo, ninguno de los 181 pacientes con PT positiva y QTF negativo que no recibió tratamiento evolucionó a ETB durante los dos años de seguimiento<sup>207</sup>. Debemos señalar que solo 66 de los pacientes eran menores de 15 años y que por tanto son necesarios más estudios en población pediátrica para establecer las pautas racionales de actuación clínica<sup>207</sup>. En otro estudio realizado en Japón en 349 adultos jóvenes, solo 4 pacientes presentaron QTF positivo frente a 95 con PT positiva. Se realizó quimioprofilaxis solo en estos 4 casos. El seguimiento de los restantes 91 pacientes con PT positiva y QTF negativo durante más de 3,5 años no comprobó evolución a ETB<sup>208</sup>.

Continúan existiendo importantes cuestiones pendientes de resolver a cerca de la utilización de IGRAS en población pediátrica. La probable disminución de sensibilidad en menores de 4 años y en inmunodeprimidos así como su peor capacidad en detectar infecciones antiguas que pudiesen reactivarse si no reciben tratamiento son las principales incertidumbres.

A raíz de todos los datos expuestos en estudios realizados en niños hasta el momento, algún autor ha publicado recientemente sus conclusiones respecto a la utilidad de los IGRAS en niños<sup>209</sup>. Podrían ser útiles en niños con exposición reciente a enfermo bacilífero que sean mayores de 4 años, ya que a esta edad la respuesta inmune celular es adecuada. En aquellos casos en los cuales se realicen en población inmigrante por cribado de TB, cuando se observen resultados discordantes entre la PT y el IGRA la actitud más recomendada sería la siguiente: Si el IGRA es positivo, dada la elevada especificidad de la prueba observada en la mayor parte de estudios, aún con PT negativa se recomienda tratamiento. Si el IGRA es negativo, en niños vacunados consideraremos positivas induraciones del Mantoux superiores o iguales a 15 mm. Sin embargo, si ambos

tests son negativos en niños con sospecha de ETB debemos obviar los resultados e instaurar tratamiento<sup>209</sup>.

En el momento actual, siempre sujeto a posteriores revisiones, y considerando lo expuesto y nuestra experiencia podemos hacer las siguientes recomendaciones:

1. La PT debe seguir siendo el test de elección en el cribado de la ITBL en niños inmigrantes o procedentes de adopción internacional.
2. Los IGRAS se pueden utilizar como prueba complementaria para incrementar la especificidad, sobre todo en niños vacunados con BCG, que no refieran contacto con TB y que presenten induraciones inferiores a 15 mm, reduciendo la interferencia de la vacunación con BCG previa o la infección por otras micobacterias.
3. En casos de sospecha de ETB se debe obviar los resultados negativos de la PT y de los IGRAS dado que su sensibilidad no alcanza el 100%.

## **CAPÍTULO 6**

### **CONCLUSIONES**

---

---

## **CONCLUSIONES**

1. Para el diagnóstico de la enfermedad tuberculosa, el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* ofrece una sensibilidad del 98% y una especificidad del 99%. Respecto al diagnóstico de la infección tuberculosa latente, considerando la prueba de tuberculina como el referente diagnóstico, la sensibilidad del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* es del 45%.
2. Los niños vacunados de BCG y los niños no expuestos a enfermos tuberculosos presentan una peor correlación entre ambas pruebas (*QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* y prueba de tuberculina) que los niños no vacunados y los niños expuestos. El 92% de los resultados discordantes son debidos a la combinación de prueba de tuberculina positiva y *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* negativo y se observan fundamentalmente en niños vacunados con BCG diagnosticados de infección tuberculosa latente.
3. Los niños diagnosticados de infección tuberculosa latente con *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* negativo presentan induraciones de la prueba de tuberculina de menor tamaño que aquellos diagnosticados de infección tuberculosa latente con *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* positivo.
4. Un porcentaje de resultados positivos de la prueba de tuberculina en niños vacunados y asintomáticos, que no refieren contacto con adulto enfermo de tuberculosis, especialmente si son menores de 3 años (recien vacunados) o presentan induraciones intermedias del Mantoux (entre 10 y 15 mm), pueden ser falsos positivos. Por ello, determinados casos seleccionados se podrían beneficiar de la realización de una prueba más específica como el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*, debido a que su resultado no se afecta por vacunación previa con BCG. Sin embargo, son necesarios nuevos estudios realizados en población pediátrica que establezcan la indicación de realización

de “*doble screening*” y la actitud terapéutica en estos casos con prueba de tuberculina positiva y *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* negativo.

5. En los niños con antecedente de exposición a *Mycobacterium tuberculosis*, el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* ofreció mejor capacidad de predecir la infección o la enfermedad tuberculosa que la prueba de tuberculina.
6. En niños que no presenten cicatriz sugestiva de vacunación BCG y procedan de países de alta endemia de tuberculosis las induraciones del Mantoux superiores o iguales a 5 mm presentan una excelente sensibilidad (100%) y especificidad (93,6%).
7. En niños con cicatriz sugestiva de vacunación BCG, la elevación del punto de corte de la prueba de tuberculina a 15 mm conlleva una importante disminución de la sensibilidad de la prueba que solo detecta el 60,9% de los casos de infección o enfermedad.
8. El *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* no discriminó entre infección tuberculosa latente y enfermedad tuberculosa.
9. En nuestra población la malnutrición y la presencia de infecciones virales, bacterianas o parasitarias, no influyeron en el resultado del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®*.
10. No encontramos asociación entre la edad y la cantidad del interferón-gamma producida tras estimulación con antígenos de *Mycobacterium tuberculosis*. Pese a no detectar diferencias estadísticamente significativas, observamos que los niños con resultados indeterminados presentan edades inferiores en comparación con aquellos en los cuales el resultado de la prueba es positivo o negativo. Ello induce a pensar que la edad pudiera influir sobre el resultado de la prueba, siendo necesaria la realización de estudios amplios en población pediátrica dirigidos a dilucidar esta cuestión.

## **CAPÍTULO 7**

### **BIBLIOGRAFÍA**

---

- (1) World Health Organization (WHO). Guidance for national tuberculosis programmes on the management of TB in children. 2006; Disponible en: [http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO\\_HTM\\_TB\\_2006.371\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_HTM_TB_2006.371_eng.pdf).
- (2) World Health Organization (WHO). Global tuberculosis control - epidemiology, strategy, financing. 2009; Disponible en: [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/2008/key\\_points/es/index.html](http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008/key_points/es/index.html).
- (3) World Health Organization (WHO). Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. Report 2008. Disponible en: [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/2008/key\\_points/es/index.html](http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008/key_points/es/index.html).
- (4) Surveillance of Tuberculosis in Europe. Report on tuberculosis cases notified in 2005. Disponible en: [http://www.eurotb.org/rapports/2005/full\\_report.pdf](http://www.eurotb.org/rapports/2005/full_report.pdf).
- (5) Aziz MA, Wright A. The World Health Organization/International Union Against Tuberculosis and Lung Disease Global Project on Surveillance for Anti-Tuberculosis Drug Resistance: a model for other infectious diseases. *Clin Infect Dis*. 2005;41:S258-62.
- (6) Méndez Echevarría A, Baquero Artigao F, García Miguel MJ, Rojo Conejo P, Ballesteros Díez Y, Rubio Gribble B, et al. Tuberculosis multirresistente en la edad pediátrica. *An Pediatr (Barc)*. 2007;67:206-11.
- (7) Smith KC, Seaworth BJ. Drug-resistant tuberculosis: controversies and challenges in pediatrics. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2005;3:995-1010.
- (8) Shah NS, Wright A, Bai GH, Barrera L, Boulahbal F, Martin-Casabona N, et al. Worldwide emergence of extensively drug-resistant tuberculosis. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:380-7.
- (9) Balagué M, Orcau A, Sánchez P, Tortajada C, Caylà JA, Programa de Prevención y Control de la TBC y Unidad de Investigación en TBC de Barcelona. Servicio de Epidemiología. Agència de Salut Pública de Barcelona. Epidemiología actual de la tuberculosis en España: Hacia una mejor vigilancia y control. Boletín de Control de Calidad de la Sociedad Española de Infectología y Microbiología

Clínica (SEIMC) 2002;14:43-7. Disponible en:

[http://www.seimc.org/control/revi\\_Micobac/Epitbc.htm](http://www.seimc.org/control/revi_Micobac/Epitbc.htm).

(10) Piñeiro Pérez R, Mellado Pena MJ, Méndez Echevarría A, Cilleruelo Ortega MJ, García Hortelano M, Villota Arrieta J, et al. Exposición a tuberculosis multirresistente: estudio y seguimiento de nueve niños. *An Pediatr (Barc)*. 2008;68:490-5.

(11) World Health Organization (WHO). Anti-Tuberculous Drug Resistance in the World. 4<sup>th</sup> Global Report 2008; Disponible en:

[http://www.who.int/tb/publications/2008/drs\\_report4\\_26feb08.pdf](http://www.who.int/tb/publications/2008/drs_report4_26feb08.pdf).

(12) Boletín Epidemiológico de la CAM. Registro Regional de Casos de Tuberculosis de la Comunidad de Madrid. Informe del año 2007. Diciembre 2008;14:35-62.

(13) Ministerio de trabajo e inmigración. Observatorio Permanente de la Inmigración. Secretaria de Estado de Inmigración y Emigración. Extranjeros con tarjeta de residencia o autorización de estancia por estudios en vigor a 30 de Junio de 2009. Informe trimestral 2/2009. 10-9-2009; Disponible en:

<http://extranjeros.mtin.es/es/InformacionEstadistica/Informes/Extranjeros30Junio2009/index.html>.

(14) Valles X, Sánchez F, Panella H, García De Olalla P, Jansa JM, Cayla JA. Tuberculosis importada: una enfermedad emergente en países industrializados *Med Clin (Barc)* 2002;118:376-8.

(15) Del Rosal T, Baquero-Artigao F, García Miguel MJ, Melcón C, Méndez Echevarría A, López G, et al. Tuberculosis pulmonar infantil: Revisión de 30 años. Comunicación presentada en: IV Congreso de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica. 6-8 de Marzo del 2008. Marbella, España. Disponible en:

[http://www.seipweb.es/index.php?option=com\\_content&task=view&id=61&Itemid=44&limit=1&limitstart=8](http://www.seipweb.es/index.php?option=com_content&task=view&id=61&Itemid=44&limit=1&limitstart=8).



- (16) Jiménez M, Casal M, Grupo Español de Micobacteriología (GEM). Situación de las resistencias a fármacos de *Mycobacterium tuberculosis* en España. *Rev Esp Quimioter.* 2008;21:22-5.
- (17) Méndez Echevarría A, Mellado Peña MJ, Baquero-Artigao F, García Miguel MJ. Tuberculosis. Protocolos de Infectología de la Asociación Española de Pediatría - Sociedad de Infectología Pediátrica, 2009. Disponible en: <http://www.aeped.es/protocolos/infectologia/index.htm>.
- (18) Borrell S, Español M, Orcau A, Tudo G, March F, Cayla JA, et al. Tuberculosis transmission patterns among Spanish-born and foreign-born populations in the city of Barcelona. *Clin Microbiol Infect.* 2009 (en prensa).
- (19) Mandalakas AM, Kirchner HL, Zhu X, Yeo KT, Starke JR. Interpretation of repeat tuberculin skin testing in international adoptees: conversions or boosting. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27:913-9.
- (20) Altet Gómez MN, Alcaide Megías J. La tuberculosis en niños inmigrantes: dificultades y recomendaciones. *An Pediatr (Barc).* 2005;62(supl 1):1-5.
- (21) Ministerio de sanidad, política social y deporte. Secretaria de Estado de política social. Datos de adopción internacional. Periodo 2003-2007. Disponible en: <http://www.mepsyd.es/politica-social/familias infancia/adopciones/>.
- (22) Mellado Peña MJ, Méndez Echevarría A, Martínez Fernández MR. Tuberculosis. En: Muñoz Calvo MT, Hidalgo Vicario MI, Clemente Pollán J, editores. *Pediatría extrahospitalaria: Fundamentos clínicos para atención primaria.* 4<sup>a</sup> ed. Majadahonda (Madrid): Ergón; 2008. p. 443-9.
- (23) Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS, Beyers N, Donald PR, Starke JR. Childhood pulmonary tuberculosis: old wisdom and new challenges. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173:1078-90.
- (24) Shingadia D, Novelli V. Diagnosis and treatment of tuberculosis in children. *Lancet Infect Dis.* 2003;3:624-32.

- (25) Chun JK, Kim CK, Kim HS, Jung GY, Lee TJ, Kim KH, et al. The role of a whole blood interferon-gamma assay for the detection of latent tuberculosis infection in Bacille Calmette-Guerin vaccinated children. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;62:389-94.
- (26) Richeldi L, Ewer K, Losi M, Bergamini BM, Roversi P, Deeks J, et al. T cell-based tracking of multidrug resistant tuberculosis infection after brief exposure. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170:288-95.
- (27) Grupo de trabajo de Tuberculosis de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica. Interpretación de la prueba de tuberculina en niños. *An Pediatr (Barc).* 2003;59:582-5.
- (28) Zar HJ, Hanslo D, Apolles P, Swingler 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.
- (29) Benítez Robredo T, Llerena Achutegui P, López Giménez R, Brugera Moreno C, Lasheras Lozano L. Grupo de Trabajo del Programa de Atención al niño en situación social de riesgo. Determinantes socioeconómicos de las familias inmigrantes. *An Pediatr (Barc).* 2004;60:9-15.
- (30) Grupo de Trabajo de Tuberculosis de Las Sociedades Científicas, Comunidades Autónomas, Ministerio de Sanidad y Consumo. Plan Nacional para la prevención y el control de la tuberculosis en España. *Arch. Bronconeumol.* 2009;45:139-44.
- (31) Institute of Medicine. Ending neglect: the elimination of tuberculosis in the United State. Institute of Medicine Report; 2000.
- (32) Taylor Z, Nolan CM, Blumberg HM, American Thoracic Society, Centers for Disease Control and Prevention, Infectious Diseases Society of America. Controlling tuberculosis in the United States. Recommendations from the American Thoracic Society, CDC, and the Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm Rep.* 2005;54(RR-12):1-81.

- (33) Richeldi L. An update on the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174:736-42.
- (34) World Health Organization (WHO). WHO vaccine-preventable diseases: monitoring system 2008 global summary. Disponible en: <http://www.who.int/vaccines/globalsummary/immunization/timeseries/tswucoverage/bcg.htm>.
- (35) Goonetilleke NP, McShane H, Hannan CM, Anderson RJ, Brookes RH, Hill AV. Enhanced immunogenicity and protective efficacy against Mycobacterium tuberculosis of bacille Calmette-Guerin vaccine using mucosal administration and boosting with a recombinant modified vaccinia virus Ankara. *J Immunol.* 2003;171:1602-9.
- (36) 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.
- (37) Araujo Z, de Waard JH, de Larrea CF, Borges R, Convit J. The effect of Bacille Calmette-Guerin vaccine on tuberculin reactivity in indigenous children from communities with high prevalence of tuberculosis. *Vaccine.* 2008;26:5575-81.
- (38) Roth A, Sodemann M, Jensen H, Poulsen A, Gustafson P, Gomes J, et al. Vaccination technique, PPD reaction and BCG scarring in a cohort of children born in Guinea-Bissau 2000-2002. *Vaccine.* 2005;23:3991-8.
- (39) Colditz GA, Brewer TF, Berkey CS, Wilson ME, Burdick E, Fineberg HV, et al. Efficacy of BCG vaccine in the prevention of tuberculosis. Meta-analysis of the published literature. *JAMA.* 1994;271:698-702.
- (40) Ildirim I, Sapan N, Cavusoglu B. Comparison of BCG vaccination at birth and at third month of life. *Arch Dis Child.* 1992;67:80-82.
- (41) Floyd S, Ponnighaus JM, Bliss L, Warndorff DK, Kasunga A, Mogha P, et al. BCG scars in northern Malawi: sensitivity and repeatability of scar reading, and factors affecting scar size. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2000;4:1133-42.

- (42) Wang L, Turner MO, Elwood RK, Schulzer M, FitzGerald JM. A meta-analysis of the effect of Bacille Calmette Guerin vaccination on tuberculin skin test measurements. *Thorax*. 2002;57:804-9.
- (43) Fjallbrant H, Ridell M, Larsson LO. BCG scar and tuberculin reactivity in children and adults. *Scand J Infect Dis*. 2008;40:387-92.
- (44) Grindulis H, Baynham MI, Scott PH, Thompson RA, Wharton BA. Tuberculin response two years after BCG vaccination at birth. *Arch Dis Child*. 1984;59:614-9.
- (45) Fine PE, Ponnighaus JM, Maine N. The distribution and implications of BCG scars in northern Malawi. *Bull. World Health Organ*. 1989;67:35-42.
- (46) Baily GV. Tuberculosis prevention Trial, Madras. *Indian J Med Res*. 1980;72 Suppl:1-74.
- (47) Beskow R, Bleiker M, Dahlstrom G, Mellbin T, Sjogren I, Styblo K. Sensitivity to tuberculin in Swedish schoolboys vaccinated with BCG at birth. *Bull Int Union Tuberc*. 1980;55:101-6.
- (48) Sivarajah N, Sivayogan S, Jegatheesan J, Gnananathan V. BCG vaccination and development of a scar. *Ceylon Med J*. 1990;35:75-7.
- (49) Milstien JB, Gibson JJ. Quality control of BCG vaccine by WHO: a review of factors that may influence vaccine effectiveness and safety. *Bull World Health Organ*. 1990;68:93-108.
- (50) Sterne JA, Fine PE, Ponnighaus JM, Sibanda F, Munthali M, Glynn JR. Does bacille Calmette-Guerin scar size have implications for protection against tuberculosis or leprosy? *Tuber Lung Dis*. 1996;77:117-23.
- (51) Sedaghatian MR, Shana'a IA. Evaluation of BCG at birth in the United Arab Emirates. *Tubercle*. 1990;71:177-80.
- (52) Chhatwal J, Verma M, Thaper N, Aneja R. Waning of post vaccinal allergy after neonatal BCG vaccination. *Indian Pediatr*. 1994;31:1529-33.

- (53) Fine PE, Sterne JA, Ponnighaus JM, Rees RJ. Delayed-type hypersensitivity, mycobacterial vaccines and protective immunity. *Lancet*. 1994;344:1245-49.
- (54) Chadha VK, Jaganath PS, Kumar P. Tuberculin sensitivity among children vaccinated with BCG under universal immunization programme. *Indian J. Pediatr*. 2004;71:1063-68.
- (55) Bozaykut A, Ipek IO, Ozkars MY, Seren LP, Atay E, Atay Z. Effect of BCG vaccine on tuberculin skin tests in 1-6-year-old children. *Acta Paediatr*. 2002;91:235-38.
- (56) Cilleruelo Ortega MJ. Situación vacunal frente a enfermedades inmunoprevenibles en niños procedentes de adopción internacional. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. Facultad de Medicina, 2007.
- (57) Cilleruelo MJ, de Ory F, Ruiz-Contreras J, González-González R, Mellado MJ, García-Hortelano M, et al. Internationally adopted children: what vaccines should they receive? *Vaccine*. 2008;26:5784-90.
- (58) Fine PE. BCG: the challenge continues. *Scand J Infect Dis*. 2001;33:243-5.
- (59) Mabey D, Peeling RW, Ustianowski A, Perkins MD. Diagnostics for the developing world. *Nat Rev Microbiol*. 2004;2:231-40.
- (60) Reid JK, Ward H, Marciniuk D, Hudson S, Smith P, Hoepfner V. The effect of neonatal bacille Calmette-Guerin vaccination on purified protein derivative skin test results in Canadian aboriginal children. *Chest*. 2007;131:1806-10.
- (61) Gulnar SB, Bulut BU. Influence of BCG vaccination on tuberculin reactivity in healthy Turkish school children. *Acta Paediatr*. 1997;86:549.
- (62) Bowerman RJ. Tuberculin skin testing in BCG-vaccinated populations of adults and children at high risk for tuberculosis in Taiwan. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2004;8:1228-33.

- (63) Chee CB, Soh CH, Boudville IC, Chor SS, Wang YT. Interpretation of the tuberculin skin test in Mycobacterium bovis BCG-vaccinated Singaporean schoolchildren. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164:958-61.
- (64) Ciesielski SD. BCG vaccination and the PPD test: what the clinician needs to know. *J Fam Pract.* 1995;40:76-80.
- (65) Bugiani M, Borraccino A, Migliore E, Carosso A, Piccioni P, Cavallero M, et al. Tuberculin reactivity in adult BCG-vaccinated subjects: a cross-sectional study. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2003;7:320-26.
- (66) Gounder CR, Driver CR, Scholten JN, Shen H, Munsiff SS. Tuberculin testing and risk of tuberculosis infection among New York City schoolchildren. *Pediatrics.* 2003;111:e309-15.
- (67) Lienhardt C, Sillah J, Fielding K, Donkor S, Manneh K, Warndorff D, et al. Risk factors for tuberculosis infection in children in contact with infectious tuberculosis cases in the Gambia, West Africa. *Pediatrics.* 2003;111:e608-14.
- (68) Mudido PM, Guwatudde D, Nakakeeto MK, Bukenya GB, Nsamba D, Johnson JL, et al. The effect of bacille Calmette-Guerin vaccination at birth on tuberculin skin test reactivity in Ugandan children. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1999;3:891-5.
- (69) Sleiman R, Al-Tannir M, Dakdouki G, Ziade F, Assi NA, Rajab M. Interpretation of the tuberculin skin test in bacille Calmette-Guerin vaccinated and nonvaccinated school children. *Pediatr Infect Dis J.* 2007;26:134-8.
- (70) Weir RE, Gorak-Stolinska P, Floyd S, Lalor MK, Stenson S, Branson K, et al. Persistence of the immune response induced by BCG vaccination. *BMC Infect Dis.* 2008;8:9.
- (71) Chan PC, Chang LY, Wu YC, Lu CY, Kuo HS, Lee CY, et al. Age-specific cut-offs for the tuberculin skin test to detect latent tuberculosis in BCG-vaccinated children. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008;12:1401-6.
- (72) Grupo de Trabajo de Tuberculosis de la Sociedad de Española de Infectología Pediátrica. Documento de consenso sobre el tratamiento de la exposición a

tuberculosis y de la infección tuberculosa latente en niños. *An Pediatr (Barc)*. 2006;64:59-65.

(73) Altet N. Micobacterias no tuberculosas: ¿una infección emergente? *An Pediatr (Barc)*. 2009;71:185-8.

(74) Haimi-Cohen Y, Zeharia A, Mimouni M, Soukhman M, Amir J. Skin indurations in response to tuberculin testing in patients with nontuberculous mycobacterial lymphadenitis. *Clin Infect Dis*. 2001;33:1786-8.

(75) 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.

(76) Méndez Echevarría A, Baquero Artigao F, García Miguel MJ, Romero Gómez MP, Alves Ferreira F, Del Castillo Martín F. Adenitis por micobacterias no tuberculosas. *An Pediatr (Barc)*. 2007;66:254-9.

(77) Lindeboom JA, Kuijper EJ, Prins JM, Bruijnesteijn van Coppenraet ES, Lindeboom R. Tuberculin skin testing is useful in the screening for nontuberculous mycobacterial cervicofacial lymphadenitis in children. *Clin Infect Dis*. 2006;43:1547-51.

(78) Daley AJ, Isaacs D. Differential avian and human tuberculin skin testing in nontuberculous mycobacterial infection. *Arch Dis Child*. 1999;80:377-9.

(79) Albright JT, Pransky SM. Nontuberculous mycobacterial infections of the head and neck. *Pediatr Clin North Am*. 2003;50:503-14.

(80) Detjen AK, Keil T, Roll S, Hauer B, Mauch H, Wahn U, et al. Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. *Clin Infect Dis*. 2007;45:322-8.

(81) Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet*. 2000;356:1099-104.

- (82) Lyashchenko K, Colangeli R, Houde M, Al Jahdali H, Menzies D, Gennaro ML. Heterogeneous antibody responses in tuberculosis. *Infect Immun.* 1998;66:3936-40.
- (83) Hirsch CS, Toossi Z, Othieno C, Johnson JL, Schwander SK, Robertson S, et al. Depressed T-cell interferon-gamma responses in pulmonary tuberculosis: analysis of underlying mechanisms and modulation with therapy. *J Infect Dis.* 1999;180:2069-73.
- (84) Lewinsohn DA, Gennaro ML, Scholvinck L, Lewinsohn DM. Tuberculosis immunology in children: diagnostic and therapeutic challenges and opportunities. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2004;8:658-74.
- (85) Nagai S, Wiker HG, Harboe M, Kinomoto M. Isolation and partial characterization of major protein antigens in the culture fluid of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun.* 1991;59:372-82.
- (86) Behr MA, Wilson MA, Gill WP, Salamon H, Schoolnik GK, Rane S, et al. Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray. *Science.* 1999;284:1520-3.
- (87) Gordon SV, Brosch R, Billault A, Garnier T, Eiglmeier K, Cole ST. Identification of variable regions in the genomes of tubercle bacilli using bacterial artificial chromosome arrays. *Mol Microbiol.* 1999;32:643-55.
- (88) Harboe M, Nagai S, Patarroyo ME, Torres ML, Ramírez C, Cruz N. Properties of proteins MPB64, MPB70, and MPB80 of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1986;52:293-302.
- (89) Mustafa AS, Amoudy HA, Wiker HG, Abal AT, Ravn P, Oftung F, et al. Comparison of antigen-specific T-cell responses of tuberculosis patients using complex or single antigens of *Mycobacterium tuberculosis*. *Scand J Immunol.* 1998;48:535-43.



- (90) Wilcke JT, Jensen BN, Ravn P, Andersen AB, Haslov K. Clinical evaluation of MPT-64 and MPT-59, two proteins secreted from Mycobacterium tuberculosis, for skin test reagents. *Tuber Lung Dis.* 1996;77:250-6.
- (91) Andersen P, Andersen AB, Sorensen AL, Nagai S. Recall of long-lived immunity to Mycobacterium tuberculosis infection in mice. *J Immunol.* 1995;154:3359-72.
- (92) Berthet FX, Rasmussen PB, Rosenkrands I, Andersen P, Gicquel B. A Mycobacterium tuberculosis operon encoding ESAT-6 and a novel low-molecular-mass culture filtrate protein (CFP-10). *Microbiology.* 1998;144:3195-203.
- (93) Ulrichs T, Munk ME, Mollenkopf H, Behr-Perst S, Colangeli R, Gennaro ML, et al. Differential T cell responses to Mycobacterium tuberculosis ESAT6 in tuberculosis patients and healthy donors. *Eur J Immunol.* 1998;28:3949-58.
- (94) Ravn P, Demissie A, Eguale T, Wondwosson H, Lein D, Amoudy HA, et al. Human T cell responses to the ESAT-6 antigen from Mycobacterium tuberculosis. *J Infect Dis.* 1999;179:637-45.
- (95) Lein AD, von Reyn CF, Ravn P, Horsburgh CR, Jr, Alexander LN, Andersen P. Cellular immune responses to ESAT-6 discriminate between patients with pulmonary disease due to Mycobacterium avium complex and those with pulmonary disease due to Mycobacterium tuberculosis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1999;6:606-9.
- (96) van Pinxteren LA, Ravn P, Agger EM, Pollock J, Andersen P. Diagnosis of tuberculosis based on the two specific antigens ESAT-6 and CFP10. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2000;7:155-60.
- (97) Starke JR. Interferon-gamma release assays for diagnosis of tuberculosis infection in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2006;25:941-2.
- (98) Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170:59-64.

- (99) Pai M, Riley LW, Colford JM, Jr. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2004;4:761-76.
- (100) Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, Iademarco MF, Metchock B, Vernon A, et al. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United States. *MMWR Recomm Rep.* 2005;54(RR-15):49-55.
- (101) Carvalho AC, Pezzoli MC, El-Hamad I, Arce P, Bigoni S, Scarcella C, et al. QuantiFERON-TB Gold test in the identification of latent tuberculosis infection in immigrants. *J Infect.* 2007;55:164-8.
- (102) Nicol MP, Pienaar D, Wood K, Eley B, Wilkinson RJ, Henderson H, et al. Enzyme-linked immunospot assay responses to early secretory antigenic target 6, culture filtrate protein 10, and purified protein derivative among children with tuberculosis: implications for diagnosis and monitoring of therapy. *Clin Infect Dis.* 2005;40:1301-8.
- (103) Herrmann JL, Belloy M, Porcher R, Simonney N, Aboutaam R, Lebourgeois M, et al. Temporal dynamics of interferon gamma responses in children evaluated for tuberculosis. *PLoS One* 2009;4:e4130.
- (104) Doherty TM, Demissie A, Olobo J, Wolday D, Britton S, Egualé T, et al. Immune responses to the Mycobacterium tuberculosis-specific antigen ESAT-6 signal subclinical infection among contacts of tuberculosis patients. *J Clin Microbiol.* 2002;40:704-6.
- (105) Richeldi L, Ewer K, Losi M, Bergamini BM, Millington K, Fabbri LM, et al. T-cell-based diagnosis of neonatal multidrug-resistant latent tuberculosis infection. *Pediatrics.* 2007;119:e1-5.
- (106) Lalvani A, Pathan AA, Durkan H, Wilkinson KA, Whelan A, Deeks JJ, et al. Enhanced contact tracing and spatial tracking of Mycobacterium tuberculosis infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Lancet.* 2001;357:2017-21.

- (107) Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170:65-9.
- (108) Soysal A, Millington KA, Bakir M, Dosanjh D, Aslan Y, Deeks JJ, et al. Effect of BCG vaccination on risk of Mycobacterium tuberculosis infection in children with household tuberculosis contact: a prospective community-based study. *Lancet.* 2005;366:1443-51.
- (109) Chapman AL, Munkanta M, Wilkinson KA, Pathan AA, Ewer K, Ayles H, et al. Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of Mycobacterium tuberculosis-specific T cells. *AIDS.* 2002;16:2285-93.
- (110) Richeldi L, Luppi M, Losi M, Luppi F, Potenza L, Roversi P, et al. Diagnosis of occult tuberculosis in hematological malignancy by enumeration of antigen-specific T cells. *Leukemia.* 2006;20:379-81.
- (111) Richeldi L, Ewer K, Losi M, Hansell DM, Roversi P, Fabbri LM, et al. Early diagnosis of subclinical multidrug-resistant tuberculosis. *Ann Intern Med.* 2004;140:709-13.
- (112) Ravn P, Munk ME, Andersen AB, Lundgren B, Nielsen LN, Lillebaek T, et al. Reactivation of tuberculosis during immunosuppressive treatment in a patient with a positive QuantiFERON-RD1 test. *Scand J Infect Dis.* 2004;36:499-501.
- (113) Liebeschuetz S, Bamber S, Ewer K, Deeks J, Pathan AA, Lalvani A. Diagnosis of tuberculosis in South African children with a T-cell-based assay: a prospective cohort study. *Lancet.* 2004;364:2196-203.
- (114) Diel R, Wrighton-Smith P, Zellweger JP. Cost-effectiveness of interferon-gamma release assay testing for the treatment of latent tuberculosis. *Eur Respir J.* 2007;30:321-32.
- (115) Wrighton-Smith P, Zellweger JP. Direct costs of three models for the screening of latent tuberculosis infection. *Eur Respir J.* 2006;28:45-50.

- (116) Gooding S, Chowdhury O, Hinks T, Richeldi L, Losi M, Ewer K, et al. Impact of a T cell-based blood test for tuberculosis infection on clinical decision-making in routine practice. *J Infect.* 2007;54:e169-74.
- (117) Kang YA, Lee HW, Hwang SS, Um SW, Han SK, Shim YS, et al. Usefulness of whole-blood interferon-gamma assay and interferon-gamma enzyme-linked immunospot assay in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. *Chest.* 2007;132:959-65.
- (118) Kang YA, Lee HW, Yoon HI, Cho B, Han SK, Shim YS, et al. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. *JAMA.* 2005;293:2756-61.
- (119) Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. *Ann Intern Med.* 2007;146:340-54.
- (120) Connell TG, Curtis N, Ranganathan SC, Buttery JP. Performance of a whole blood interferon gamma assay for detecting latent infection with *Mycobacterium tuberculosis* in children. *Thorax.* 2006;61:616-20.
- (121) Dogra S, Narang P, Mendiratta DK, Chaturvedi P, Reingold AL, Colford JM, Jr, et al. Comparison of a whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. *J Infect.* 2007;54:267-76.
- (122) Ferrara G, Losi M, D'Amico R, Roversi P, Piro R, Meacci M, et al. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*: a prospective study. *Lancet.* 2006;367:1328-34.
- (123) Connell T, Bar-Zeev N, Curtis N. Early detection of perinatal tuberculosis using a whole blood interferon-gamma release assay. *Clin Infect Dis.* 2006;42:e82-5.

- (124) Smart JM, Kemp AS. Ontogeny of T-helper 1 and T-helper 2 cytokine production in childhood. *Pediatr Allergy Immunol.* 2001;12:181-7.
- (125) McLaren DS, Read WW. Classification of nutritional status in early childhood. *Lancet.* 1972;2:146-8.
- (126) American Academy of Paediatrics. Medical evaluation of internationally adopted children for infectious diseases. En: Pickering LK, editor. Red book: 2003 report of the Committee on Infectious Diseases. 25th ed.: Elk Grove Village, IL; 2003. p. 173-80.
- (127) Kroger AT, Atkinson WL, Marcuse EK, Pickering LK, Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) Centers for Disease Control and Prevention (CDC). General recommendations on immunization: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep.* 2006;55(RR-15):1-48.
- (128) Bianchi L, Galli L, Moriondo M, Veneruso G, Becciolini L, Azzari C, et al. Interferon-gamma release assay improves the diagnosis of tuberculosis in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2009;28:510-4.
- (129) Ewer K, Millington KA, Deeks JJ, Alvarez L, Bryant G, Lalvani A. Dynamic antigen-specific T-cell responses after point-source exposure to Mycobacterium tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174:831-9.
- (130) Nakaoka H, Lawson L, Squire SB, Coulter B, Ravn P, Brock I, et al. Risk for tuberculosis among children. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:1383-8.
- (131) Bergamini BM, Losi M, Vaianti F, D'Amico R, Meccugni B, Meacci M, et al. Performance of commercial blood tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection in children and adolescents. *Pediatrics.* 2009;123:e419-24.
- (132) Connell TG, Ritz N, Paxton GA, BATTERY JP, Curtis N, Ranganathan SC. A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB gold and T-SPOT.TB in children. *PLoS One* 2008;3:e2624.

- (133) Haustein T, Ridout DA, Hartley JC, Thaker U, Shingadia D, Klein NJ, et al. The likelihood of an indeterminate test result from a whole-blood interferon-gamma release assay for the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection in children correlates with age and immune status. *Pediatr Infect Dis J.* 2009;28:669-73.
- (134) Kampmann B, Whittaker E, Williams A, Walters S, Gordon A, Martinez-Alier N, et al. Interferon-gamma release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test. *Eur Respir J.* 2009;33:1374-82.
- (135) Okada K, Mao TE, Mori T, Miura T, Sugiyama T, Yoshiyama T, et al. Performance of an interferon-gamma release assay for diagnosing latent tuberculosis infection in children. *Epidemiol Infect.* 2008;136:1179-87.
- (136) Dominguez J, Ruiz-Manzano J, De Souza-Galvao M, Latorre I, Mila C, Blanco S, et al. Comparison of two commercially available gamma interferon blood tests for immunodiagnosis of tuberculosis. *Clin Vaccine Immunol.* 2008;15:168-71.
- (137) Torres HE, Zapico M, Vivas S, Mostaza JL, Blanco J, Ruiz de Morales JM. Aplicación clínica de una prueba de producción de interferón gamma para el diagnóstico de tuberculosis latente en poblaciones hospitalarias de riesgo . *Med Clin (Barc).* 2008;130:761-6.
- (138) Huerga Aramburu H, López-Vélez R. Estudio comparativo de la patología infecciosa en niños inmigrantes de distintas procedencias. *An Pediatr (Barc).* 2004;60:16-21.
- (139) Mandalakas AM, Kirchner HL, Iverson S, Chesney M, Spencer MJ, Sidler A, et al. Predictors of Mycobacterium tuberculosis infection in international adoptees. *Pediatrics.* 2007;120:e610-6.
- (140) García Ascaso M, Méndez Echevarría A, Cilleruelo Ortega MJ, García Hortelano M, Villota Arrieta J, Subirats M, et al. Relación entre parasitación intestinal y estado nutricional en niños procedentes de otros países. Comunicación presentada en: IV congreso de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica. 6-8 de Marzo del 2008. Marbella, España. Disponible en:

[http://www.seipweb.es/index.php?option=com\\_content&task=view&id=61&Itemid=44&limit=1&limitstart=8](http://www.seipweb.es/index.php?option=com_content&task=view&id=61&Itemid=44&limit=1&limitstart=8).

(141) Aronson J. Medical evaluation and infectious considerations on arrival. *Pediatr Ann.* 2000;29:218-23.

(142) Miller LC. International adoption: infectious diseases issues. *Clin Infect Dis.* 2005;40:286-93.

(143) Trehan I, Meinzen-Derr JK, Jamison L, Staat MA. Tuberculosis screening in internationally adopted children: the need for initial and repeat testing. *Pediatrics.* 2008;122:e7-14.

(144) Fortin K, Carceller A, Robert M, Chevalier I, Lamarre V, Lebel MH. Prevalence of positive tuberculin skin tests in foreign-born children. *J Paediatr Child Health.* 2007;43:768-72.

(145) Lobato MN, Sun SJ, Moonan PK, Weis SE, Saiman L, Reichard AA, et al. Underuse of effective measures to prevent and manage pediatric tuberculosis in the United States. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2008;162:426-31.

(146) Cruz AT, Starke JR. Clinical manifestations of tuberculosis in children. *Paediatr Respir Rev.* 2007;8:107-17.

(147) Nelson LJ, Schneider E, Wells CD, Moore M. Epidemiology of childhood tuberculosis in the United States, 1993-2001: the need for continued vigilance. *Pediatrics.* 2004;114:333-41.

(148) Newton SM, Brent AJ, Anderson S, Whittaker E, Kampmann B. Paediatric tuberculosis. *Lancet Infect Dis.* 2008;8:498-510.

(149) Alcaide Megias J, Altet Gomez MN, Canela i Soler J. Epidemiología de la tuberculosis. *An Esp Pediatr.* 2000;53:449-57.

(150) American Thoracic Society (ATS), Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Infectious Diseases Society of America (IDSA), American

Academy of Pediatrics (AAP). Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161:S221-47.

(151) Starke JR. Diagnosis of tuberculosis in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2000;19:1095-6.

(152) Woods CR. Advances in diagnosis and therapy of childhood tuberculosis. *Paediatr Respir Rev.* 2006;7 Suppl 1:S130-1.

(153) Walls T, Shingadia D. Global epidemiology of paediatric tuberculosis. *J Infect.* 2004;48:13-22.

(154) Trunz BB, Fine P, Dye C. Effect of BCG vaccination on childhood tuberculous meningitis and miliary tuberculosis worldwide: a meta-analysis and assessment of cost-effectiveness. *Lancet.* 2006;367:1173-80.

(155) Schulte JM, Maloney S, Aronson J, San Gabriel P, Zhou J, Saiman L. Evaluating acceptability and completeness of overseas immunization records of internationally adopted children. *Pediatrics.* 2002;109:e22.

(156) Viviano E, Cataldo F, Accomando S, Firenze A, Valenti RM, Romano N. Immunization status of internationally adopted children in Italy. *Vaccine.* 2006;24:4138-43.

(157) Eisenhut M, Paranjothy S, Abubakar I, Bracebridge S, Lilley M, Mulla R, et al. BCG vaccination reduces risk of infection with Mycobacterium tuberculosis as detected by gamma interferon release assay. *Vaccine.* 2009;27:6116-20.

(158) Diel R, Nienhaus A, Lange C, Meywald-Walter K, Forssbohm M, Schaberg T. Tuberculosis contact investigation with a new, specific blood test in a low-incidence population containing a high proportion of BCG-vaccinated persons. *Respir Res.* 2006;7:77.

(159) Mazurek GH, Weis SE, Moonan PK, Daley CL, Bernardo J, Lardizabal AA, et al. Prospective comparison of the tuberculin skin test and 2 whole-blood interferon-gamma release assays in persons with suspected tuberculosis. *Clin Infect Dis.* 2007;45:837-45.



- (160) Porsa E, Cheng L, Seale MM, Delclos GL, Ma X, Reich R, et al. Comparison of a new ESAT-6/CFP-10 peptide-based gamma interferon assay and a tuberculin skin test for tuberculosis screening in a moderate-risk population. *Clin Vaccine Immunol.* 2006;13:53-8.
- (161) Park SY, Jeon K, Um SW, Kwon OJ, Kang ES, Koh WJ. Clinical utility of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test for the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. *Scand J Infect Dis.* 2009;1-5.
- (162) Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. *Ann Intern Med.* 2008;149:177-84.
- (163) Barnes PF. Weighing gold or counting spots: which is more sensitive to diagnose latent tuberculosis infection? *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174:731-2.
- (164) Dheda K, van Zyl-Smit RN, Meldau R, Meldau S, Symons G, Khalfey H, et al. Quantitative lung T cell responses aid the rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Thorax.* 2009;64:847-53.
- (165) Quan C, Lu CZ, Qiao J, Xiao BG, Li X. Comparative evaluation of early diagnosis of tuberculous meningitis by different assays. *J Clin Microbiol.* 2006;44:3160-6.
- (166) Kusters K, Nau R, Bossink A, Greiffendorf I, Jentsch M, Ernst M, et al. Rapid diagnosis of CNS tuberculosis by a T-cell interferon-gamma release assay on cerebrospinal fluid mononuclear cells. *Infection.* 2008;36:597-600.
- (167) Ferrara G, Losi M, Meacci M, Meccugni B, Piro R, Roversi P, et al. Routine hospital use of a new commercial whole blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;172:631-5.
- (168) Tsiouris SJ, Austin J, Toro P, Coetzee D, Weyer K, Stein Z, et al. Results of a tuberculosis-specific IFN-gamma assay in children at high risk for tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2006;10:939-41.

- (169) Matulis G, Juni P, Villiger PM, Gadola SD. Detection of latent tuberculosis in immunosuppressed patients with autoimmune diseases: performance of a Mycobacterium tuberculosis antigen-specific interferon gamma assay. *Ann Rheum Dis.* 2008;67:84-90.
- (170) Barnes PF, Bloch AB, Davidson PT, Snider DE, Jr. Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1991;324:1644-50.
- (171) Klein RB, Fischer TJ, Gard SE, Biberstein M, Rich KC, Stiehm ER. Decreased mononuclear and polymorphonuclear chemotaxis in human newborns, infants, and young children. *Pediatrics.* 1977;60:467-72.
- (172) Nelson DJ, Holt PG. Defective regional immunity in the respiratory tract of neonates is attributable to hyporesponsiveness of local dendritic cells to activation signals. *J Immunol.* 1995;155:3517-24.
- (173) Bakir M, Dosanjh DP, Deeks JJ, Soysal A, Millington KA, Efe S, et al. Use of T cell-based diagnosis of tuberculosis infection to optimize interpretation of tuberculin skin testing for child tuberculosis contacts. *Clin Infect Dis.* 2009;48:302-12.
- (174) Lalvani A, Millington KA. T cell-based diagnosis of childhood tuberculosis infection. *Curr Opin Infect Dis.* 2007;20:264-71.
- (175) Lighter J, Rigaud M, Eduardo R, Peng CH, Pollack H. Latent tuberculosis diagnosis in children by using the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test. *Pediatrics.* 2009;123:30-7.
- (176) Yeste D, Carrascosa A. Raquitismo carencial en la infancia: análisis de 62 casos. *Med Clin (Barc).* 2003;121:23-7.
- (177) Tang ML, Coleman J, Kemp AS. Interleukin-4 and interferon-gamma production in atopic and non-atopic children with asthma. *Clin Exp Allergy.* 1995;25:515-21.

- (178) Copenhaver CC, Gern JE, Li Z, Shult PA, Rosenthal LA, Mikus LD, et al. Cytokine response patterns, exposure to viruses, and respiratory infections in the first year of life. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170:175-80.
- (179) Grupo colaborativo para la validación del QUANTIFERON-TB GOLD TEST en niños. Méndez Echevarría A, González-Muñoz M, Mellado MJ, Baquero-Artigao F, Blázquez D, et al. Quantiferon-TB Gold test en el diagnóstico de la infección tuberculosa latente y enfermedad tuberculosa. Comunicación presentada en: IV Congreso de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica. 6-8 de Marzo del 2008. Marbella, España. Disponible en:  
[http://www.seipweb.es/index.php?option=com\\_content&task=view&id=61&Itemid=44&limit=1&limitstart=8](http://www.seipweb.es/index.php?option=com_content&task=view&id=61&Itemid=44&limit=1&limitstart=8).
- (180) Collaborative Group for the study of QuantiFERON-TB GOLD Test in children. Méndez Echevarría A, González-Muñoz M, Del Rosal T, Mellado MJ, Baquero Artigao F, et al. "Quantiferon-TB Gold Test and diagnosis of Latent Tuberculous Infection and Tuberculosis in children". Comunicación presentada en: 26rd Annual meeting of European Society of Pediatric Infectious Diseases. Mayo, 2008. Graz, Austria.; Disponible en:  
<http://www.kenes.com/espид2008/program/PosterIndex.asp>.
- (181) García M, Vargas JA, Castejón R, Navas E, Durantez A. Flow-cytometric assessment of lymphocyte cytokine production in tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb).* 2002;82:37-41.
- (182) Zhang M, Lin Y, Iyer DV, Gong J, Abrams JS, Barnes PF. T-cell cytokine responses in human infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun.* 1995;63:3231-4.
- (183) Handzel ZT, Barak V, Altman Y, Bibi H, Lidgi M, Iancovici-Kidon M, et al. Increased Th1 and Th2 type cytokine production in patients with active tuberculosis. *Isr Med Assoc J.* 2007;9:479-83.

- (184) Kori M, Barak V, Leibovitz E, Altman Y, Eliraz A, Handzel ZT. Specific in vitro proliferative immune responses and lymphokine production in Ethiopian children with and without tuberculosis. *Infection*. 2000;28:42-5.
- (185) Al-Muhsen S, Casanova JL. The genetic heterogeneity of mendelian susceptibility to mycobacterial diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122:1043-51.
- (186) Ottenhoff TH, Verreck FA, Hoeve MA, van de Vosse E. Control of human host immunity to mycobacteria. *Tuberculosis (Edinb)*. 2005;85:53-64.
- (187) Alcais A, Fieschi C, Abel L, Casanova JL. Tuberculosis in children and adults: two distinct genetic diseases. *J Exp Med*. 2005;202:1617-21.
- (188) Anuradha B, Rakh SS, Ishaq M, Murthy KJ, Valluri VL. Interferon-gamma Low producer genotype +874 overrepresented in Bacillus Calmette-Guerin nonresponding children. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27:325-9.
- (189) López-Maderuelo D, Arnalich F, Serantes R, González A, Codoceo R, Madero R, et al. Interferon-gamma and interleukin-10 gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167:970-5.
- (190) Nienhaus A, Schablon A, Diel R. Interferon-gamma release assay for the diagnosis of latent TB infection--analysis of discordant results, when compared to the tuberculin skin test. *PLoS One*. 2008;3:e2665.
- (191) Tsiouris SJ, Coetzee D, Toro PL, Austin J, Stein Z, El-Sadr W. Sensitivity analysis and potential uses of a novel gamma interferon release assay for diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol*. 2006;44:2844-50.
- (192) Cehovin A, Cliff JM, Hill PC, Brookes RH, Dockrell HM. Extended culture enhances sensitivity of a gamma interferon assay for latent Mycobacterium tuberculosis infection. *Clin Vaccine Immunol*. 2007;14:796-8.
- (193) Leyten EM, Arend SM, Prins C, Cobelens FG, Ottenhoff TH, van Dissel JT. Discrepancy between Mycobacterium tuberculosis-specific gamma interferon release assays using short and prolonged in vitro incubation. *Clin Vaccine Immunol*. 2007;14:880-5.

- (194) Taylor RE, Cant AJ, Clark JE. Potential effect of NICE tuberculosis guidelines on paediatric tuberculosis screening. *Arch Dis Child*. 2008;93:200-3.
- (195) National Collaborating Center for Chronic Conditions. Tuberculosis: Clinical diagnosis and management of tuberculosis and measures for its prevention and control. Disponible en:  
<http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/CG033FullGuideline.pdf>.
- (196) Metcalfe JZ, Cattamanchi A, Vittinghoff E, Ho C, Grinsdale J, Hopewell PC, et al. Evaluation of Quantitative Interferon- $\gamma$  Response for Risk Stratification of Active Tuberculosis Suspects. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 (en prensa).
- (197) Liao CH, Chou CH, Lai CC, Huang YT, Tan CK, Hsu HL, et al. Diagnostic performance of an enzyme-linked immunospot assay for interferon-gamma in extrapulmonary tuberculosis varies between different sites of disease. *J Infect*. 2009;59:402-8.
- (198) Luca MC, Petrovici CM, Vata A, Dorobat C, Nastase E, Luca V, et al. Gamma interferon testing in blood and cerebrospinal fluid--rapid method for the diagnosis of tuberculous meningitis. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. 2008;112:108-10.
- (199) Iguchi M, Maruyama K, Tsutsumi Y, Uchiyama S, Iwata M. QuantiFERON: an early diagnostic tool for cerebral tuberculosis. *Rinsho Shinkeigaku*. 2008;48:259-62.
- (200) Chen X, Yang Q, Zhang M, Graner M, Zhu X, Larmonier N, et al. Diagnosis of active tuberculosis in China using an in-house gamma interferon enzyme-linked immunospot assay. *Clin Vaccine Immunol*. 2009;16:879-84.
- (201) Thomas MM, Hinks TS, Raghuraman S, Ramalingam N, Ernst M, Nau R, et al. Rapid diagnosis of Mycobacterium tuberculosis meningitis by enumeration of cerebrospinal fluid antigen-specific T-cells. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2008;12:651-7.
- (202) Carrol ED, Clark JE, Cant AJ. Non-pulmonary tuberculosis. *Paediatr Respir Rev*. 2001;2:113-9.

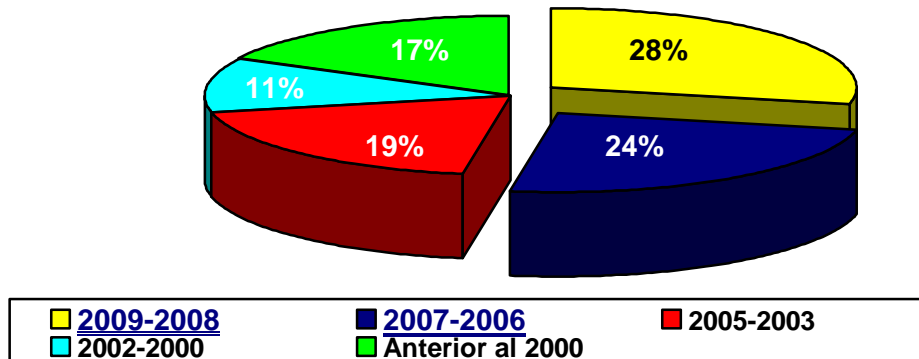
- (203) Uchibori A, Miyazaki T, Ariga H, Chiba A. Interferon-gamma release assay in cerebrospinal fluid of a patient with tuberculous meningitis: a case report. *Rinsho Shinkeigaku*. 2009;49:428-31.
- (204) Grupo de Trabajo sobre TBC. Fondo de Investigación Sanitaria (FIS). Ministerio de Sanidad y Consumo. Consenso nacional para el control de la tuberculosis en España. *Med Clin (Barc)*. 1992;98:24-31.
- (205) Espinosa Arévalo M, Vázquez Gallardo R, Gayoso Diz P. La prueba de tuberculina en los controles del niño sano. ¿Debemos cambiar nuestra práctica? *An Pediatr (Barc)*. 2006;65:225-8.
- (206) American Academy of Paediatrics. Tuberculosis. En: Pickering L, Baker C, Long SS, editores. Red book: 2006 report of the Committee on Infectious Diseases. 25th ed.: Elk Grove Village, IL; 2006. p. 678-98.
- (207) Diel R, Loddenkemper R, Meywald-Walter K, Niemann S, Nienhaus A. Predictive value of a whole blood IFN-gamma assay for the development of active tuberculosis disease after recent infection with Mycobacterium tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177:1164-70.
- (208) Higuchi K, Harada N, Mori T, Sekiya Y. Use of QuantiFERON-TB Gold to investigate tuberculosis contacts in a high school. *Respirology*. 2007;12:88-92.
- (209) Powell DA. Interferon gamma release assays in the evaluation of children with possible Mycobacterium tuberculosis infection: a view to caution. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:676-7.

## **CAPÍTULO 8**

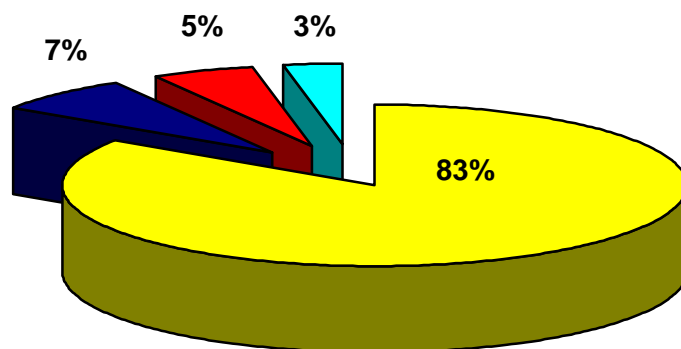
***BIBLIOMETRÍA***

---

### AÑO DE PUBLICACIÓN DE LAS REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



### TIPOS DE REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



- Artículos en Revistas Internacionales
- Artículos en Revistas Nacionales
- Información obtenida mediante páginas web
- Otros



**1. PUBLICACIONES EN REVISTAS INTERNACIONALES**

174 Referencias (83,2%)

**2. PUBLICACIONES EN REVISTAS NACIONALES**

16 Referencias (7,6%)

**3. INFORMACIÓN OBTENIDA A TRAVES DE PAGINAS WEB**

11 Referencias (5,2%)

- a. Datos epidemiológicos (OMS, Ministerio de Sanidad, Ministerio de Trabajo, Boletines epidemiológicos...): 9 Referencias (4%)
- b. Guías clínicas y protocolos: 2 Referencias (0,9%)

**4. COMUNICACIONES EN CONGRESOS**

4 Referencias (1,9%)

**5. CAPÍTULOS DE LIBRO**

3 Referencias (1,4%)

**6. TESIS DOCTORAL**

1 Referencia (0,4%)

## **CAPÍTULO 9**

**FORMULARIOS Y ANEXOS**

---



**ANEXO 1**

**DATOS DEL PACIENTE (código identificador):**

**EDAD**

**PESO**

**TALLA**

**PAÍS**

**MANTOUX**

- Lectura 72 h

- Induración en milímetros:

**MOTIVO DE INCLUSIÓN:**

**1 ADOPTADO - INMIGRANTE**

**2 EXPUESTO TB**

**3 SOSPECHA TB**

REFIERE BCG	SI	NO
APORTA CARTILLA DE VACUNACIÓN CON BCG	SI	NO
CICATRIZ BCG	SI	NO
VACUNA VIRUS VIVOS RECIENTES	SI	NO
INFECCIÓN BACTERIANA ACTIVA	SI	NO
INFECCIÓN VIRAL ACTIVA	SI	NO
INFECCIÓN PARASITARIA ACTIVA	SI	NO

**DIAGNÓSTICO FINAL:**

**SANO**

**INFECCIÓN LATENTE**

**ENFERMO**

**ANEXO 2**

<b>CONTACTO CON TB CONOCIDO:</b>	SI	NO
<b>a. CONTACTO CASUAL</b>	SI	NO
<b>b. CONTACTO ESTRECHO FAMILIAR</b>	SI	NO
<b>CONTACTO CON BACILIFERO</b>	SI	NO
<b>CLÍNICA (descripción):</b>		
<b>BAAR POSITIVO:</b>	SI	NO
<b>ORIGEN DE MUESTRA BAAR POSITIVO</b>		
<b>CULTIVO POSITIVO</b>	SI	NO
<b>ORIGEN DE MUESTRA CULTIVO POSITIVO</b>		
<b>PCR POSITIVA</b>	SI	NO
<b>ORIGEN DE MUESTRA PCR POSITVA</b>		
<b>RX / TC TÓRAX (descripción)</b>		
<b>ESTUDIO HISTOLÓGICO (descripción)</b>		
<b>OTRAS PRUEBAS (descripción)</b>		

### **ANEXO 3**

#### **DOCUMENTO DE INFORMACIÓN A LOS PADRES**

1. Les invitamos a que su hijo participe en el estudio de investigación “*Utilidad Diagnóstica del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en la Infección Tuberculosa Latente y en la Enfermedad Tuberculosa en Edad Pediátrica*”.
2. La prueba de la que disponemos actualmente, para diagnosticar la tuberculosis presenta en ocasiones resultados falsamente positivos. Este estudio permitirá estudiar una nueva prueba diagnóstica.
3. Esta prueba llamada *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®* ha demostrado ser muy eficaz en el diagnóstico de la tuberculosis en adultos, pero existen pocos datos en niños.
4. Si decide que su hijo participe en el estudio, se le realizará un análisis de sangre coincidiendo con una extracción que su hijo precise por otros motivos. Igualmente se le realizará una prueba de tuberculina.
5. El único perjuicio que podrá sufrir es el enrojecimiento e inflamación en la zona de administración de la prueba de tuberculina (Mantoux) o la aparición de algún hematoma en el lugar de la extracción de sangre.
6. Así mismo debe considerar la ventaja de que la realización de estas pruebas conlleve el diagnóstico de tuberculosis en su hijo.

**ANEXO 4**

**DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

***“Utilidad Diagnóstica del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en la Infección Tuberculosa Latente y en la Enfermedad Tuberculosa en Edad Pediátrica”***

El Dr/ Dra..... me ha explicado la naturaleza y el propósito del estudio en el que se nos ha propuesto que participe nuestro hijo/hija. He podido realizar preguntas, que me han sido satisfactoriamente respondidas.

Me han explicado que la participación en este estudio es voluntaria, pudiendo abandonarlo en cualquier momento sin que ello repercuta en los cuidados médicos administrados a mi hijo/hija.

Se me ha explicado que la información que contenga la identidad de mi hijo/hija no será divulgada.

**Presto libremente mi conformidad para que mi hijo/hija participe en el estudio arriba mencionado**

Nombre y apellidos del paciente:  
.....

Nombre y apellidos del tutor o representante legal del paciente:  
.....

Firma del tutor:..... Fecha:.....

**He explicado de forma íntegra al paciente/representantes legales descritos arriba todo lo concerniente a este estudio.**

**Firma del Investigador: .....**

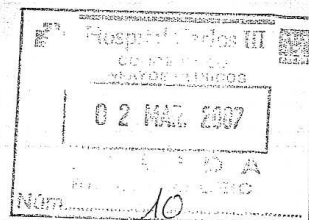
Fecha: .....

**ANEXO 5**



**Hospital Carlos III**

Comunidad de Madrid



**INFORME DEL COMITÉ ÉTICO Y DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA**

**Dr. Carlos Lahoz Rallo, Secretario del Comité Ético y de Investigación Clínica del Hospital Carlos III**

**CERTIFICA:**

Que este Comité con fecha 22 de Febrero de 2007 (acta 143), ha evaluado el **Proyecto de Investigación**, titulado: “ **Estudio de validación del QuantiFERÓN-TB Gold® test para el diagnóstico de infección tuberculosa latente en niños**”, con código interno P4/07 y cuya Investigadora Principal es la Dra. Ana Méndez.

**Y considera que:**

-Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.

-La capacidad de los investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

-El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Lo que firmo en Madrid, a veintitres de Febrero de dos mil siete



Fdo. Dr. Carlos Lahoz Rallo  
Secretario del CEIC

**ANEXO 6:**

**EJEMPLO DE DOCUMENTO PRESENTADO EN UNO DE LOS HOSPITALES PARTICIPANTES**



**COMPROMISO DEL INVESTIGADOR**

---

**Hace constar:**

- Que conoce y acepta participar como investigador principal en el Proyecto de Investigación titulado: “*Utilidad Diagnóstica del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en la Infección Tuberculosa Latente y en la Enfermedad Tuberculosa en Edad Pediátrica*”
- Que se compromete a que cada sujeto sea tratado y controlado siguiendo lo establecido en el protocolo autorizado por el Comité Ético de Investigación Clínica.
- Que respetará las normas éticas aplicables a este tipo de estudios
- Que dicho estudio se llevará a cabo contando con la colaboración de:

\_\_\_\_\_

como investigadores colaboradores.

En Madrid a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2007

Investigador Principal

Coinvestigador

Coinvestigador



## **ANEXO 7**

Dra. Ana Méndez  
Servicio de Pediatría. Hospital "Carlos III".  
C) Sinesio Delgado 10, 28029. Madrid.  
e-mail: [amendezes@yahoo.es](mailto:amendezes@yahoo.es)  
Teléfono: 620-780002

### **DIRIGIDO AL COMITÉ ÉTICO Y DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA HOSPITAL \_\_\_\_\_**

Me dirijo a ustedes en relación al estudio de investigación: "*Utilidad Diagnóstica del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en la Infección Tuberculosa Latente y en la Enfermedad Tuberculosa en Edad Pediátrica*" que ya ha sido aceptado por el Comité ético del Hospital "Carlos III", de Madrid.

Este estudio requiere la participación de 9 Hospitales de la Comunidad de Madrid, ya que precisa la determinación de interferón-gamma en sangre de niños con tuberculosis atendidos en estos Centros.

La determinación se realizará coincidiendo con alguna extracción de sangre que precise el paciente, y la inclusión en el estudio no conllevará ningún perjuicio al mismo. Se mantendrá la confidencialidad de los datos del paciente según las normas éticas del Biobanco.

Solicitamos el visto bueno de este Comité y aportamos una memoria resumida del proyecto, así como documentos de: información al paciente, consentimiento informado, documento de aceptación del Comité Ético del Hospital "Carlos III" y compromiso del investigador principal del Hospital \_\_\_\_\_.

Un cordial saludo

Dra. Ana Méndez Echevarría.

## **ANEXO 8**

### **CENTROS Y MÉDICOS PARTICIPANTES**

#### **1. HOSPITAL “CARLOS III”**

##### **329 Pacientes incluidos**

**Dña. Ana Méndez Echevarría** (Médico Adjunto), Responsable del Estudio –  
Dña. M<sup>a</sup> José Mellado Peña (Médico Adjunto), Servicio de Pediatría.

D. Miguel González Muñoz (Médico Adjunto) Servicio de Inmunología.  
Responsable de realización del QTF en las muestras enviadas.

c./ Sinesio Delgado, 10 – (28029) Madrid

TFs.: 91.4532656 / 620.780002 / 605.846003

#### **2. HOSPITAL UNIVERSITARIO “LA PAZ”**

##### **64 Pacientes Incluidos**

**Dña. Ana Méndez Echevarría** (Médico Adjunto) - Servicio de Pediatría  
General.

D. Fernando del Castillo (Jefe de Sección) - Unidad de Enfermedades  
Infecciosas Pediátricas.

Paseo de la Castellana, 261 – (28046) Madrid

TF.: 91.7277230

#### **3. HOSPITAL UNIVERSITARIO “GREGORIO MARAÑÓN”**

##### **21 Pacientes incluidos**

Dra. Marisa Navarro (Médico Adjunto) - Unidad de Enfermedades  
Infecciosas Pediátricas.

c/ Doctor Esquerdo, 46 – (28007) Madrid

TF.: 677.387431

#### **4. HOSPITAL UNIVERSITARIO CLÍNICO “SAN CARLOS”**

##### **14 Pacientes Incluidos**

D. Daniel Blázquez (Médico residente) - Servicio de Pediatría

c./ Profesor Martín Lagos s/n. – (28040) Madrid

TFs.: 635.056852 / 639.431614

**5. HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GETAFE**

**9 Pacientes Incluidos**

Dña. Marta Ruiz Jiménez (Médico Adjunto) – Servicio de Pediatría

Carretera de Madrid-Toledo, km 12,5 – (28905) Getafe

TFs.: 630.577660 / 677.409289

**6. HOSPITAL UNIVERSITARIO “PRINCIPE DE ASTURIAS”**

**7 Pacientes Incluidos**

Dña. María Penín (Médico Adjunto) - Servicio de Pediatría.

Carretera Alcalá-Meco s/n (Campus Unisitario) – (28805) Alcalá de Henares.

TFs.: 91.8878100 (extensiones 2497 y 2494) / 653.589582

**7. HOSPITAL UNIVERSITARIO “12 DE OCTUBRE”**

**7 Pacientes Incluidos**

Dña. Maribel González Tomé (Médico Adjunto) - Servicio de Pediatría /  
Unidad de Inmunodeficiencias y Lactantes.

Avenida Córdoba s/n– (28041) Madrid

Tfs.: 661.278393 / 91.3908346 / 91.3908501 / 636.407766

**8. HOSPITAL UNIVERSITARIO DEL “NIÑO JESÚS”**

**5 Pacientes Incluidos**

Dra. Beatriz Pérez Gorricho (Médico Adjunto) - Unidad de Medicina Preventiva y Enfermedades Infecciosas

Avda Menéndez Pelayo, 65 – (28009) Madrid

TFs.: 657.882422 / 91.5035900 (extensiones 276 y 426)

**9. HOSPITAL “SEVERO OCHOA”**

**3 Pacientes Incluidos**

Dra. Cristina Calvo (Médico Adjunto) - Servicio de Pediatría

Avda Orellana s/n – (28911) Leganés

TF: 609.033285

**ANEXO 9**

**CODIFICACIÓN DE CADA CENTRO**

- HOSPITAL CARLOS III	<b>HCIII</b>
- HOSPITAL LA PAZ	<b>HPAZ</b>
- HOSPITAL GREGORIO MARAÑÓN	<b>HUGM</b>
- HOSPITAL 12 DE OCTUBRE	<b>HDOC</b>
- HOSPITAL CLÍNICO SAN CARLOS	<b>HCSC</b>
- HOSPITAL DEL NIÑO JESÚS	<b>HNJ</b>
- HOSPITAL DE GETAFE	<b>HGF</b>
- HOSPITAL PRINCIPE DE ASTURIAS	<b>HPA</b>
- HOSPITAL SEVERO OCHOA	<b>HSO</b>

## **CAPÍTULO 10**

**RESUMEN**

---

---

## 1. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis (TB) continúa siendo un importante problema de salud pública a nivel mundial, localizándose el 90% de los casos en países en vías de desarrollo. La población de estas áreas está emigrando a países de rentas superiores, observándose actualmente como en nuestro medio la tasa de TB en inmigrantes supera a la observada en población autóctona española.

Tras la primoinfección tuberculosa los niños tienen un riesgo superior al de los adultos de desarrollar la enfermedad y de padecer formas diseminadas. Por ello el diagnóstico precoz de la infección tuberculosa latente (ITBL) es fundamental en población pediátrica, debiéndose realizar una prueba de tuberculina (PT) a todo niño inmigrante en su primer examen de salud en nuestro país. Sin embargo, esta prueba puede presentar resultados falsos negativos (debidos a la edad, la malnutrición, la inmunodepresión, la presencia de infecciones activas o de vacunación reciente con vacuna de virus vivos atenuados) así como falsos positivos por vacunación con bacilo de Calmette-Guerin (BCG). Muchos niños inmigrantes han recibido esta vacuna en su país de origen. Sin embargo hasta el momento la PT ha sido el único método para identificar la ITBL y es utilizada actualmente para el cribado de la misma.

En la última década se ha comenzado a desarrollar nuevos métodos diagnósticos que consisten en la estimulación *in vitro* de los linfocitos T con antígenos específicos de *M.tuberculosis* ausentes en el bacilo de *Calmette-Guerin*, en *M.bovis* y en la mayor parte de las micobacterias ambientales, para cuantificar posteriormente la activación linfocitaria o la producción del interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ) por parte de estos linfocitos. Estos métodos parecen ser más específicos no presentando aparentemente resultados falsos positivos. Sin embargo aún está por esclarecer su indicación en la población pediátrica, motivo por el cual se planteo la realización de este estudio.

## 2. OBJETIVOS

### Principales:

- Comparar la utilidad de dos pruebas diagnósticas, el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube*® (QTF) y la prueba de tuberculina para el diagnóstico de la infección tuberculosa latente y la enfermedad tuberculosa en niños inmunocompetentes menores de 15 años.
- Comparar los resultados de la prueba de tuberculina y los obtenidos mediante el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube*® en población vacunada y no vacunada con BCG.

### Secundarios:

- Comprobar si la edad, la situación nutricional o la presencia de otras infecciones influyen en la capacidad de producir Interferón- $\gamma$ , y por tanto, pudiesen modificar el resultado del QTF.
- Utilizando el QTF como “*Gold Standard*” analizar la sensibilidad y especificidad de la prueba de tuberculina según las recomendaciones de su interpretación de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica (SEIP).

### **3. DISEÑO, PACIENTES Y MÉTODOS**

Estudio transversal multicéntrico que incluye menores de 15 años inmunocompetentes procedentes de 9 Hospitales Públicos de la Comunidad Autónoma de Madrid en los que se realiza estudio de TB. El estudio se inicia en Marzo del 2007 y finaliza en Octubre del 2008. Los pacientes se clasifican en tres grupos: 1. Niños adoptados e inmigrantes sin contacto con TB, 2. Niños con contacto con TB y 3. Niños con sospecha clínica de enfermedad tuberculosa (ETB). Se excluyen los pacientes con infección por el VIH, tratamiento crónico inmunosupresor, enfermedades autoinmunes, trasplante de órgano sólido o médula ósea, procesos proliferativos malignos, inmunodeficiencias congénitas, insuficiencia renal o hepática crónica. También se excluyen pacientes diagnosticados con anterioridad de ITBL o ETB que ya recibieron tratamiento. Se hace entrega a los padres y/o tutores de un documento con información y se solicita su autorización para la inclusión del menor mediante la firma del oportuno consentimiento. El estudio fue aprobado por los distintos Comités Éticos y de Investigación Clínica de los Hospitales participantes.

A todos los niños se les realizó PT y QTF, interpretando el resultado de la PT según los criterios de lectura propuestos por la SEIP. La determinación del QTF se realizó en el Servicio de Inmunología del Hospital Carlos III incubando la sangre con los antígenos *Early Secretory Antigen Target-6* (ESAT-6) y *Culture Filtrate Protein 10* (CFP-10) durante 16-24 horas a 37°C. Posteriormente se recogió el plasma almacenándose a -70°C hasta el momento de la cuantificación del IFN- $\gamma$  mediante un ELISA realizado en microplaca. Se realizaron dos controles: uno negativo, basal o nil incubando la muestra con heparina sin antígenos, y uno positivo o mitógeno incubando la muestra con fitohemaglutinina. Se ha respetado la confidencialidad de la muestra siguiendo las normas de protección de datos de los "biobancos".

Se elaboró un formulario diseñado específicamente para este estudio, donde se registraron las principales variables a analizar (edad, sexo, peso y talla, índice nutricional de McLaren, país de procedencia, resultado de la PT, vacunación BCG, presencia de infecciones bacterianas, víricas o parasitarias, exposición a TB, sintomatología, pruebas complementarias y diagnóstico final del paciente). El procesamiento de las muestras del QTF así como la obtención de los datos de los pacientes incluidos finalizó en Febrero de 2009.

Los datos se han analizado en la Sección de Bioestadística del Hospital Universitario La Paz de Madrid con el programa SPSS 9.0 (SPSS Inc.). La descripción de los datos se expresa mediante frecuencias absolutas, porcentajes, media y desviación típica o mediana y rango. La relación entre variables cualitativas se estudia mediante el test chi-cuadrado o test exacto de Fisher y la distribución de variables cuantitativas entre grupos se analiza mediante el test t de Student para muestras independientes o el test U de Mann Whitney. Para analizar la asociación entre variables cuantitativas se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman y el estudio de la concordancia entre técnicas se hace a partir del coeficiente Kappa, el test de Mc Nemar y los intervalos de confianza del 95%. Para evaluar la capacidad predictiva de la induración y de la cantidad de IFN- $\gamma$  producida en los distintos subgrupos

se calculo el área bajo la curva ROC y se evaluó la sensibilidad y especificidad de las pruebas. Se considera significativo  $p < 0.05$ . El estudio ha podido ser realizado gracias a la financiación obtenida mediante la 19<sup>o</sup> Beca Dodot-Ausonia 2007 de Investigación Pediátrica concedida por la Asociación Española de Pediatría.

#### 4. RESULTADOS

Se incluyen 459 niños, 264 niñas (57,5%) y 195 niños (42,4%), con edad media  $4,73 \pm 3,68$  años. Encontramos 242 niños procedentes de adopción internacional (52,7%), 154 inmigrantes (33,5%) y 63 españoles (13,7%). El índice nutricional de McLaren medio fue del  $98 \pm 21$  %. El 35,9% de los pacientes presentaba un índice nutricional menor de 90%. Los niños adoptados presentan con mayor frecuencia desnutrición que los inmigrantes ( $p = 0,004$ ). En 161 niños se observa algún tipo de infección parasitaria, viral y/o bacteriana activa (35%). Un 46,4% de los niños presenta cicatriz sugestiva de vacunación BCG en zona deltoidea (213/459), siendo este hecho más frecuente en la población de adoptados (150/242; 61,9%) que en la de inmigrantes (63/154; 40,9%) ( $p < 0,01$ ). No existen diferencias estadísticamente significativas en la edad de la población vacunada (edad media  $4,72 \pm 3,89$  años) y de la no vacunada (edad media  $4,73 \pm 3,44$  años) ( $p = 0,5$ ).

Se realiza PT y QTF a todos los niños, en 318 niños por cribado de TB en inmigrantes /adoptados (69,2%), en 83 por referir contacto con ETB (18%) y en 58 niños por sospecha clínica de ETB (12,6%). En 318 niños se descartó la ITBL y la ETB (69,2%), 73 fueron diagnosticados de ITBL con PT positiva (15,9%) y 68 de ETB (14,8%). El 72% de los niños diagnosticados de ETB eran inmigrantes (49/68). Los niños diagnosticados de ETB eran menores ( $4,9 \pm 4,1$  años) que los niños con ITBL ( $6,7 \pm 4,2$  años) ( $p = 0,015$ ).

Se observa un mayor porcentaje de resultados positivos del Mantoux en población vacunada con BCG respecto a la no vacunada (21,3% versus 15,6%). Sin embargo esta diferencia no es estadísticamente significativa ( $p = 0,15$ ). La población vacunada presenta con mayor frecuencia induraciones entre 10 y 15 mm (12,6%) que la no vacunada (4,3%) ( $p < 0,01$ ). Los menores de 3 años con BCG presentan un mayor porcentaje de resultados positivos del Mantoux (14,5%) en comparación con los menores de 3 años sin BCG (2,6%) ( $p = 0,008$ ). Este fenómeno no se observa en los mayores de 3 años ( $p = 0,6$ ). El riesgo de presentar un resultado positivo del Mantoux es superior en los menores de 3 años vacunados ( $OR = 2,5$ ) que en mayores de 3 años vacunados ( $OR = 1,1$ ) ( $p = 0,004$ ).

##### Resultados del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®

Se obtienen 343 resultados negativos, 96 positivos y 20 indeterminados (4,3% del total). Todos los resultados indeterminados se producen por falta de activación linfocitaria tras estimulación con fitohemaglutinina.

De los 68 casos de ETB, 6 presentaron resultados indeterminados (8,8%). En los 62 casos restantes, el QTF fue positivo en 61 [Sensibilidad del 98,3% (IC95; 94-100%)]. De los 318 pacientes clasificados como sanos por la PT, el QTF presentó resultado indeterminado en 11. En los 307



*Utilidad Diagnóstica del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en la Infección Tuberculosa Latente y en la Enfermedad Tuberculosa en Edad Pediátrica.*  
Ana M<sup>a</sup> Méndez Echevarría

pacientes restantes, el QTF fue negativo en 304 casos [Especificidad del 99% (IC 97-100%)]. De los 73 casos de ITBL, 3 presentaron resultados indeterminados. En los 70 pacientes restantes 32 presentaron resultados positivos del QTF (45%). Se observa un porcentaje superior de resultados indeterminados en pacientes diagnosticados de ETB (8,8%; 6/68) en comparación con los obtenidos en pacientes con ITBL y no infectados (3,5%; 14/391). Esta diferencia no resultó significativa ( $p=0,097$ ). No se observan diferencias significativas en la cantidad de IFN- $\gamma$  producida en niños con QTF positivo diagnosticados de ITBL y en niños con QTF positivo diagnosticados de ETB ( $p=0,7$ ).

Edad, estado nutricional, coinfecciones y resultados del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube®

Los niños con resultados indeterminados tienen una edad inferior ( $3,51 \pm 2,99$  años) que los niños con resultados positivos o negativos del QTF ( $4,78 \pm 3,7$  años). Esta diferencia no resultó estadísticamente significativa ( $p=0,12$ ). No se observa correlación entre la cantidad de IFN- $\gamma$  producida tras estimulación con fitohemaglutinina y la edad ( $r=0,135$ ) o el índice nutricional ( $r=0,058$ ). Los niños con resultados indeterminados no presentan índices nutricionales menores que el resto de población ( $p=0,21$ ). Los niños con resultados indeterminados no asocian más coinfecciones parasitarias, virales o bacterianas activas que los pacientes con resultados positivos o negativos del QTF ( $p=0,156$ ).

QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® y prueba de tuberculina, comparación de sus resultados

Se obtienen un 8,9% (41/459) de resultados discordantes entre las dos pruebas, siendo el 92,6% resultados positivos de la PT y negativos del QTF (38/41). En 3 niños encontramos PT negativa y QTF positivo, los cuales estaban asintomáticos y se habían incluido en el estudio dentro del Grupo 1 (cribado de TB en inmigrantes/adoptados). Un enfermo con meningitis tuberculosa confirmada microbiológicamente presentó PT y QTF negativos. El QTF no fue negativo en ningún caso de ETB con PT positiva.

Los pacientes diagnosticados de ITBL con resultado de QTF negativo presentan menores induraciones en la intradermorreacción de Mantoux ( $12,7 \pm 4,7$  mm) que los que presentan resultado QTF positivo ( $17,9 \pm 5,7$  mm) ( $p<0,01$ ).

Los resultados discordantes se observan más frecuentemente en los pacientes diagnosticados de ITBL (52%; 38/73) que en los niños sanos y enfermos (0,7%; 3/386) ( $p<0,01$ ). De los 38 niños diagnosticados de ITBL con QTF negativo, el 76,3%; (29/38) presentaba cicatriz de vacunación BCG frente al 23,6% (9/38) que no la presentaba ( $p=0,003$ ).

La correlación de los resultados de ambas pruebas fue excelente en población no vacunada ( $kappa$  0,91; IC95 0,85-0,97) empeorando significativamente en población vacunada ( $kappa$  0,47; IC95 0,33-0,62). Observamos más resultados discordantes PT positiva con QTF negativo en población vacunada (13,8%; 29/209) que en población no vacunada (3,9%; 9/230) ( $p<0,01$ ) (McNemar  $p=0,008$ ).

El QTF fue mejor predictor del riesgo de infección en pacientes expuestos ( $OR=13,3$ ) que la PT ( $OR=9,1$ ). La correlación entre ambas pruebas fue mejor en población con mayor riesgo de desarrollar ETB (niños estudiados por contacto) ( $kappa$  0,76; IC95 0,61-0,9) empeorando significativamente en niños con bajo riesgo de TB en los que se realizaron los tests por cribado sin

*Utilidad Diagnóstica del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en la Infección Tuberculosa Latente y en la Enfermedad Tuberculosa en Edad Pediátrica.*  
Ana M<sup>a</sup> Méndez Echevarría

contacto con TB conocido ( $kappa$  0,44; IC95 0,27-0,6) y siendo aun menor si además estos estaban vacunados con BCG ( $kappa$  0,31; IC95 0,11-0,5).

Sensibilidad y Especificidad de la prueba de tuberculina considerando el *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube*® como "Gold Standard"

En población sin BCG un Mantoux  $\geq 5$  mm presenta una sensibilidad del 100% (IC95 95-100%) y una especificidad del 93,6% (IC95% 88,7-96,5%) y una induración igual o superior a 10 mm presenta una sensibilidad del 95,9% (IC95 88,6-98,6%) y especificidad del 95,5% (IC95 91,1%-97,8) [Curva ROC: Área bajo la curva 0,977; IC95 0,95-0,99].

En población con BCG considerando positivas induraciones iguales o superiores a 10 mm la sensibilidad de la PT es del 82,6% (IC95 63-93%) y la especificidad del 86% (IC95 80-90%). Con induraciones superiores o iguales a 15 mm la sensibilidad se reduce al 60,9% (IC95 40,8-77,8%) aunque mejora la especificidad (97%; IC95 92,4-98,2%). [Curva ROC Área bajo la curva 0,865; IC95 0,76-0,96].

Sensibilidad y Especificidad del *QuantiFERON-TB Gold Test In Tube*® considerando como "Gold Standard" la prueba de tuberculina realizada en niños sin cicatriz BCG y expuestos a TB o con clínica compatible con enfermedad tuberculosa

Considerando positivos aquellos resultados del QTF con producción de IFN- $\gamma$  superiores a 0,35 UI/mL, la sensibilidad de la prueba es del 86% (IC95 79,5-93,8%) y la especificidad del 97% (IC95 85,5-99,5%). [Curva ROC= Área bajo la curva 0,94; IC95 0,89-0,98].

La media de IFN- $\gamma$  producido tras estimulación con antígenos de *M.tuberculosis* en pacientes enfermos fue  $9,15 \pm 8,9$  UI/mL, presentando un 12,9% de los enfermos cifras de IFN- $\gamma$  inferiores a 1 UI/mL (8/62, 6 resultados indeterminados excluidos).

## 5. CONCLUSIONES

- Para el diagnóstico de la enfermedad tuberculosa, el QTF ofrece una sensibilidad del 98% y una especificidad del 99%. Respecto al diagnóstico de la infección tuberculosa latente, considerando la PT como el referente diagnóstico, la sensibilidad del QTF es del 45%.
- Los niños vacunados de BCG y los niños no expuestos a enfermos tuberculosos presentan una peor correlación entre ambas pruebas (QTF y PT) que los niños no vacunados y los niños expuestos. El 92% de los resultados discordantes son debidos a la combinación de PT positiva y QTF negativo y se observan fundamentalmente en niños vacunados con BCG diagnosticados de infección tuberculosa latente.
- Los niños diagnosticados de ITBL con QTF negativo, presentan induraciones de la PT de menor tamaño que aquellos diagnosticados de infección tuberculosa latente con QTF positivo.
- Un porcentaje de resultados positivos de la PT en niños vacunados y asintomáticos, que no refieren contacto con adulto enfermo de tuberculosis, especialmente si son menores de 3 años (recien vacunados) o presentan induraciones intermedias del Mantoux (entre 10 y 15 mm), pueden ser falsos positivos. Por ello, determinados casos seleccionados se podrían beneficiar

*Utilidad Diagnóstica del QuantiFERON-TB Gold Test In Tube® en la Infección Tuberculosa Latente y en la Enfermedad Tuberculosa en Edad Pediátrica.*  
Ana M<sup>a</sup> Méndez Echevarría

de la realización de una prueba más específica como el QTF, debido a que su resultado no se afecta por vacunación previa con BCG. Sin embargo, son necesarios nuevos estudios realizados en población pediátrica que establezcan la indicación de realización de “*double screening*” y la actitud terapéutica en estos casos con PT positiva y QTF negativo.

- En los niños con antecedente de exposición a *M. tuberculosis*, el QTF ofreció mejor capacidad de predecir la infección o la enfermedad tuberculosa que la PT.
- En niños que no presenten cicatriz sugestiva de vacunación BCG y procedan de países de alta endemicidad de tuberculosis las induraciones del Mantoux superiores o iguales a 5 mm presentan una excelente sensibilidad (100%) y especificidad (93,6%).
- En niños con cicatriz sugestiva de vacunación BCG, la elevación del punto de corte de la PT a 15 mm conlleva una importante disminución de la sensibilidad de la prueba que solo detecta el 60,9% de los casos de infección o enfermedad.
- El QTF no discriminó entre infección tuberculosa latente y enfermedad tuberculosa.
- En nuestra población la malnutrición y la presencia de infecciones virales, bacterianas o parasitarias no influyeron en el resultado del QTF.
- No encontramos asociación entre la edad y la cantidad del interferón-gamma producida tras estimulación con antígenos de *M. tuberculosis*. Pese a no detectar diferencias estadísticamente significativas, observamos que los niños con resultados indeterminados presentan edades inferiores a aquellos en los que el resultado de la prueba es positivo o negativo. Ello induce a pensar que la edad pudiera influir sobre el resultado de la prueba, siendo necesaria la realización de estudios amplios en población pediátrica dirigidos a dilucidar esta cuestión.