

Inmunohistoquímica con anticuerpos anti-PPD en pacientes con sospecha de enfermedades por micobacterias en el Centro Médico ABC. Revisión de casos en un periodo de tres años

Marcela Martínez-Prieto,* Javier Baquera Heredia,**
 Samuel Rivera Rivera,* Celia B Flores de la Torre***

RESUMEN

Antecedentes: El bacilo de la tuberculosis es el agente infeccioso que causa más muertes en el mundo. En México, la tuberculosis continúa siendo endémica. Los estudios epidemiológicos en pacientes con tuberculosis describen varios factores como contribuyentes a la última epidemia tales como: falta de recursos, infraestructura de salud pública inadecuada, epidemia del VIH, abuso de sustancias y presencia de tuberculosis multirresistente. El presente estudio se realizó para describir las características histológicas y clínicas de los pacientes con infección por micobacterias en el Centro Médico ABC con una nueva tinción de inmunohistoquímica. **Métodos:** Se revisaron los expedientes de los archivos de anatomía patológica, laboratorio clínico y laboratorio de microbiología recabados entre enero de 2000 y mayo de 2003 en busca de los pacientes con sospecha diagnóstica de infección por micobacterias. Se revisaron los expedientes de los pacientes con resultado de patología con inmunohistoquímica para PPD y se describieron las localizaciones de la infección, así como los hallazgos relevantes de la historia clínica. **Resultados:** Se reunieron 38 casos con inmunohistoquímica para PPD para revisión de expedientes. Los sitios de infección fueron, por orden de frecuencia: torácica, ósea, ganglionar, abdominal, cutánea, endometrial, pericárdica, mediastinal, renal y placentaria. **Conclusiones:** Los hallazgos de sospecha de infección por micobacterias definida como inmunohistoquímica positiva para PPD en pacientes del Centro Médico ABC es predominantemente extrapulmonar. No fue posible validar este método con el estándar de oro por tratarse de un estudio retrospectivo y no contar con muestras para tal propósito.

Palabras clave: Tuberculosis, micobacterias, PPD, inmunohistoquímica, BAAR, Ziehl-Neelsen.

ABSTRACT

Background: *Tuberculous bacilli is the infectious agent that causes more deaths in the world. In Mexico, tuberculosis is still considered to be endemic. Epidemiologic studies have described factors such as lack of resources, an inadequate public health plan, the HIV epidemic, substance abuse and multidrug resistant tuberculosis as contributors for the epidemic. This study was conducted to describe histologic and clinical characteristics in patients infected by mycobacteria at the ABC Hospital.* **Methods:** We reviewed the archives of the pathology, and microbiology laboratories within the period between January 2000 and May 2003 in search of patients diagnosed with suspicion mycobacterial disease. Clinical charts were reviewed in patients with a positive immunohistochemistry for PPD and sites of infection were described. **Results:** We found 38 patients with a positive immunohistochemistry for PPD for chart review. We found 38 patients with a diagnosis of mycobacterial disease. The sites of infection in frequency order were: thoracic, osseous, nodal, abdominal, cutaneous, endometrial, pericardial, mediastinal, renal and placental. **Conclusions:** Mycobacterial disease at the ABC Medical Center is predominantly extrapulmonary. Because of the retrospective nature of this study it was not possible to validate this technique with the gold standard.

Key words: *Tuberculosis, mycobacteria, PPD, immunohistochemistry, BAAR, Ziehl-Neelsen.*

* Asociación Médica, Centro Médico ABC.

** Departamento de Patología, Centro Médico ABC.

*** Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Recibido para publicación: 22/09/08. Aceptado: 07/10/08.

Correspondencia: Dra. Marcela Martínez-Prieto

Centro Médico ABC.

Asociación Médica. Sur 136 núm. 116.

Col. Las Américas, 01120 México, D.F.

INTRODUCCIÓN

El bacilo de la tuberculosis es el agente infeccioso que causa más muertes en el mundo. *Mycobacterium tuberculosis* infecta a más de un tercio de la población mundial.¹ En el 2008, la incidencia en países como Estados Unidos es de 0.5 por 1,000 habitantes; mientras que en países como la India, la incidencia es de 2 por 1,000 habitantes.² Desde el final de la década de los ochenta, el número de casos de tuberculosis ha ido en incremento. El resurgimiento de la enfermedad es secundario a la confluencia de varios factores tales como: infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), migración desde países donde la incidencia es endémica, indigencia y falta de apego a los programas estrictos de control como el TAES (Tratamiento Acortado Estrictamente Supervisado).³

En México, la tuberculosis continúa siendo endémica. De acuerdo con los informes del Programa de Prevención y Control de la Tuberculosis, las tasas de incidencia han aumentado de 14.4 casos por 100,000 habitantes en 1986 a 18.2 casos por 100,000 habitantes en 1996.⁴ A pesar de que se cuenta con un programa de tuberculosis desde hace varias décadas, la tasa de mortalidad por la misma en 1996 fue de 4.3 por 100,000 habitantes, en una población que en aquel entonces se aproximaba a los 85 millones de habitantes.⁵

En 1882, Koch describió el bacilo tuberculoso. En 1896, el término *Mycobacterium* fue usado al identificar un gran grupo de bacterias diferentes. Las micobacterias típicas son *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *M. africanum* y *M. bovis*.⁶

Una de las principales características de las enfermedades por micobacterias es su capacidad para causar patología desde meses hasta años después de la infección. Se asume que la tuberculosis en personas nacidas en áreas endémicas resulta de la reactivación de la enfermedad por bacterias latentes.^{7,8}

Los estudios epidemiológicos en pacientes con tuberculosis durante la década de los noventa describen varios factores como contribuyentes a la última epidemia tales como: falta de recursos, infra-

estructura de salud pública inadecuada, epidemia del VIH, abuso de drogas intravenosas en personas sin hogar, inmigrantes y emergencia de tuberculosis multirresistente.⁹

El presente estudio se realizó con una técnica de inmunohistoquímica que emplea un anticuerpo contra el derivado proteico purificado (PPD) en pacientes con tejido disponible en el Departamento de Patología del Hospital ABC y patrón histológico sugerente de infección por micobacterias y se revisó el expediente clínico de los mismos para relacionar los probables datos de infección con tuberculosis con los sitios de infección sospechados.

Los objetivos de esta investigación fueron: Describir las características, distribución topográfica de los sitios descritos con hallazgos positivos para tinción de inmunohistoquímica anti-PPD en el Hospital ABC. Describir los principales síntomas de presentación, así como un método de inmunohistoquímica empleado en esta institución.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio transversal, observacional y descriptivo en el que fueron incluidos todos los pacientes del Centro Médico ABC que, dentro del periodo del primero de enero de 2000 al 31 de mayo de 2003, contaran con biopsia con patrón histológico sugerente de infección por micobacterias (granulomas tuberculosos con o sin necrosis, abscesos con o sin vacuolas, infiltración fibrohistiocítica, y paniculitis con o sin vasculitis) o con biopsias con tinciones positivas para micobacterias (Ziehl-Neelsen y/o Auramina-Rodamina), así como pacientes con diagnóstico microbiológico de infección por micobacterias (tinción positiva para bacilos ácido-alcohol resistentes y/o crecimiento en medio de cultivo Lowenstein-Jensen).

Fueron excluidos los casos con alguno de los patrones histológicos comentados, en quienes no se hubiera diagnosticado otra patología como enfermedad de Crohn, micosis profunda, etcétera, también fueron excluidos los casos en los que ninguno de los métodos diagnósticos fue positivo, aquellos que no contaron con tejido disponible para tinciones, y los que no contaron con expe-

diente médico para la recolección de datos clínicos (antecedentes heredofamiliares, antecedentes personales patológicos y no patológicos, padecimiento actual, exploración física).

En los archivos del Laboratorio de Microbiología se enlistaron los resultados de tinciones positivas para bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR), realizados a partir de los cultivos solicitados para micobacterias y que fueran reportados con crecimiento o identificación de alguna micobacteria (del grupo *M. tuberculosis* y otras micobacterias).

De los libros del archivo del Laboratorio de Patología Quirúrgica de los años 2000-2003 del Centro Médico ABC se obtuvieron los reportes con los patrones citados. Todas las laminillas fueron revisadas por un patólogo. De todos los bloques de parafina, se realizaron cortes para inmunohistoquímica (IHQ) con un anticuerpo policlonal de conejo anti-*Mycobacterium tuberculosis* (anti-PPD) elaborado por la casa Fitzgerald.

Se revisaron los expedientes clínicos electrónicos para llenar la hoja de recolección de datos, que incluía historia clínica completa.

RESULTADOS

De los archivos del Laboratorio de Patología Quirúrgica, se encontraron 117 estudios de biopsia y piezas quirúrgicas con patrones morfológicos sugerentes de infección por micobacterias y en los que se descartaron otras enfermedades granulomatosas. De los 117 reportes de biopsia, se seleccionó

naron para revisión los 37 tejidos que estuvieron disponibles para realizar una o más de las reacciones de inmunohistoquímica de Ziehl-Neelsen (ZN), Auramina-Rodamina (AR) e inmunomarcación con anticuerpo anti-PPD.

Del Laboratorio de Microbiología se identificaron doce cultivos positivos con crecimiento de colonias, cinco como *M. tuberculosis* y una como *M. abscessus* que correspondían a pacientes que tuvieron tejido con patrones morfológicos sugerentes de infección por micobacterias.

Así, se reunieron 37 casos con sospecha por patrón histológico de diagnóstico de enfermedad por micobacterias para revisión de expedientes. Para la revisión de expedientes, se excluyeron dos pacientes que tenían expediente clínico de urgencias que no contaba con los datos necesarios para llenar la hoja de recolección de datos. Ocho pacientes no tenían expediente clínico para revisión.

De los 28 pacientes incluidos en el estudio, 17 (60.7%) fueron mujeres y 11 (39.3%) fueron hombres. El rango de edad fue de dos a 87 años (promedio de 51 años).

En cuanto a las características demográficas descritas en la literatura como asociadas con infección por micobacterias, once pacientes (39.3%) tomaban bebidas alcohólicas de forma ocasional y tres (10.7%) tomaban bebidas diaria o semanalmente, llegando a la embriaguez. En siete (25%) expedientes se refería exposición previa a individuos con tuberculosis. Se encontraron únicamente dos (7.1%) sujetos con diabetes mellitus y una mujer con antecedente de diabetes gestacional. Dos (7.1%) enfermos tenían diagnóstico de SIDA. Dos (7.1%) individuos tomaban esteroides de forma crónica, según lo reportado en los expedientes; sin embargo, no se especificó la dosis ni el tiempo de administración. Dos (7.1%) sujetos eran trabajadores de la salud y una (3.6%) paciente estaba gastrectomizada. Una paciente tuvo tuberculosis pulmonar seis meses previos al diagnóstico de tuberculosis ganglionar. Sólo en dos expedientes se refirió un esquema de vacunación completo, sin más detalles de las vacunas recibidas.

Las razones de ingreso al hospital se presentan en el cuadro I. Como sintomatología agregada se refirió presencia de fiebre en cinco (17.9%) pa-

Cuadro I. Síntomas de ingreso al hospital.

Motivo de ingreso	n	%
Nódulo pulmonar	5	17.9
Dolor óseo	5	17.9
Dolor abdominal	5	17.9
Dolor torácico	3	10.7
Disnea	2	7.1
Tos crónica	2	7.1
Otros*	6	21.4

*Otros: Infertilidad, pérdida de peso, fiebre, adenopatía, *amaurosis fugax* y realización de cesárea, un caso respectivamente.

cientes y pérdida ponderal en cuatro (14.3%). La topografía de las infecciones se muestra en el *cuadro II*.

Los factores predisponentes asociados con el desarrollo de esta enfermedad son: diabetes mellitus e infección por VIH.¹⁴ La sintomatología asociada descrita en la literatura es: diaforesis nocturna, pérdida de peso y debilidad. No se encontró información en los expedientes clínicos revisados que documentara o negara esta sintomatología. En los países con alta prevalencia de tuberculosis, las personas tienen mayor exposición y presentan la enfermedad a edad más temprana, como es el caso de una de las pacientes que fue diagnosticada a los dos años de edad.

Después de la enfermedad pulmonar y la ganglionar, la forma más común es la genitourinaria con 14 a 81% de los casos en los diferentes países del primer mundo.¹⁵ El diagnóstico se hace aislando al organismo causante en la orina o en material de biopsias. Se pueden observar BAAR al microscopio, pero debe considerarse que cuando se encuentran muy pocos bacilos, éstos pueden ser micobacterias ambientales que contaminan la uretra distal.¹⁶ En los casos recabados por nosotros, sólo encontramos una mujer con sintomatología urinaria baja, y el diagnóstico se realizó mediante citología con observación de abundantes BAAR y un cultivo negativo. Encontramos además un paciente con enfermedad peneana cutánea y otros factores de riesgo como infección por VIH y cuenta de linfocitos CD4 menor de 20 células/mm³. La tuberculosis peneana puede simular otras enfermedades de transmisión sexual como sífilis y chancre con el desarrollo de úlceras y linfadenopatía. Ésta es provocada por diseminación de un sitio pulmonar primario.¹⁶ El diagnóstico, como en el caso de nuestro paciente, se confirma con el estudio histológico.

La enfermedad pélvica en las mujeres es un hallazgo poco común. El diagnóstico se establece mediante cultivos o con hallazgos de construcción de las tubas uterinas o nódulos linfáticos calcificados en el tejido de biopsia endometrial.¹⁷ La paciente con tuberculosis endometrial, contaba con el antecedente de ser médico y cuyo motivo de consulta fue infertilidad; el diagnóstico fue hecho

Cuadro II. Topografía de las lesiones diagnosticadas.

Sitio	n	%
Pulmonar	7	25.0
Pleural	4	14.0
Ósea/articular	3	11.1
Ganglionar	2	7.1
Abdominal	2	7.1
Cutánea	2	7.1
SNC	2	7.1
Intestinal	1	3.6
Endometrial	1	3.6
Pericárdica	1	3.6
Mediastinal	1	3.6
Renal	1	3.6
Placentaria	1	3.6

mediante estudio histopatológico y cultivo realizado fuera de este hospital. Asimismo, encontramos una paciente con diagnóstico de enfermedad placentaria; el diagnóstico se realizó con anti-PPD positivo. Sólo se detectaron dos referencias de este padecimiento en mujeres que fueron diagnosticadas durante el embarazo por sintomatología pulmonar¹⁸ y uno de los casos tenía infección por *M. tuberculosis* multirresistente a fármacos.¹⁹

La enfermedad gastrointestinal se define como infección de peritoneo, vísceras huecas, órganos sólidos y linfáticos abdominales con micobacterias. Ésta es la sexta localización extrapulmonar en los Estados Unidos. Las personas susceptibles de presentarla son los individuos encarcelados, habitantes de asilos y pacientes inmunocomprometidos. Los síntomas de presentación son: dolor abdominal, cambio en el hábito intestinal, pérdida de peso, fiebre y anorexia.²⁰ Los dos pacientes con enfermedad abdominal acudieron al hospital con dolor para la realización de una laparotomía exploradora; el diagnóstico se realizó por patología, tal como se refiere en la literatura.²¹

Se identificaron dos pacientes que tuvieron hallazgos sugestivos, según nuestros criterios, de afección en el sistema nervioso central (SNC): uno de ellos con febrícula y sin sintomatología neurológica e identificación de *M. tuberculosis* con PCR

de líquido cefalorraquídeo; el segundo caso correspondió a una mujer con cefalea y diagnóstico histopatológico. Ninguno de los dos tuvo enfermedad asociada con inmunosupresión ni presentó complicaciones neurológicas asociadas con el tratamiento antituberculoso.²² La tuberculosis del SNC se presenta en pacientes con SIDA, pero esto no fue el caso de ninguno de los dos pacientes recién mencionados, por lo que no podemos asegurar que hayan tenido infección en el sistema nervioso central.

La infección del sistema musculoesquelético es causada por diseminación hematogena de una lesión pulmonar primaria. Puede ocurrir poco tiempo después de la primoinfección o luego de varios años como reactivación de la enfermedad. Se caracteriza por síntomas constitucionales y dolor localizado que debe ser considerado en el diagnóstico diferencial además de las neoplasias cuando se encuentra en cuerpo vertebral. La paciente con enfermedad sinovial acudió al hospital por una fractura y otra mujer con enfermedad ósea acudió por dolor. Ninguna de las dos tuvo antecedentes de exposición a personas con tuberculosis o de enfermedad pulmonar previa.

Veinticuatro de los pacientes con hallazgos de sospecha de diagnóstico de infección por micobacterias contaron con estudio histopatológico y se encontró lo siguiente: Ocho tuvieron positividad en las tinciones de Ziehl-Neelsen y anti-PPD. Seis tuvieron tinción de Ziehl-Neelsen positiva e inmunohistoquímica negativa para anti-PPD. Se encontró Ziehl-Neelsen negativo con PPD positivo en ocho sujetos. Sólo un paciente presentó Ziehl-Neelsen negativo con anti-PPD negativo.

DISCUSIÓN

Entre las décadas de los 80 y 90 la combinación de la urbanización y la infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) dio como resultado la reaparición de la tuberculosis y cepas resistentes.¹⁰ En nuestro país, las tasas de incidencia de las infecciones por micobacterias en estados como Veracruz fue de 42.6 por 100,000 habitantes en 1999.⁹

Dos factores importantes para la optimización en el manejo de las enfermedades por micobacte-

rias son la detección oportuna y el Tratamiento Acortado Estrictamente Supervisado (TAES). El diagnóstico tradicional de tuberculosis se realiza con la tinción de Ziehl-Neelsen para BAAR y el cultivo del agente causal de la enfermedad o un Ziehl-Neelsen positivo con un cuadro clínico sugestivo. La tinción de Ziehl-Neelsen es económica, rápida y su sensibilidad es del 80% cuando se examinan tres muestras de esputo.¹¹ El cultivo, aunque sensible, es un método tardado y existen situaciones clínicas en que las decisiones terapéuticas deben hacerse antes de que el diagnóstico esté disponible.

Se ha descrito que la combinación de métodos, como el cultivo y la tinción, aumenta la sensibilidad diagnóstica a más de 90%.¹²

El diagnóstico de la tuberculosis no pulmonar es un reto importante para los médicos por las múltiples formas de presentación. La complejidad del problema se debe a que los métodos bacteriológicos son tardados y en la omisión de sospecha de tuberculosis en el diagnóstico diferencial de pacientes con síntomas inespecíficos.¹³

Las guías de tratamiento de tuberculosis publicadas por los Centros de Control de Enfermedades (CDC: *Centers for Disease Control*), la Sociedad Americana de Tórax (*American Thoracic Society*) y la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de Norte América (*Infectious Diseases Society of America: IDSA*) recomiendan que los pacientes con sospecha de diagnóstico de tuberculosis deben tener muestras recolectadas para examen microscópico y cultivo. Cuando el pulmón es el sitio de enfermedad, se deben obtener tres muestras de esputo. Se deben realizar pruebas de sensibilidad para isoniazida, rifampicina y etambutol en el cultivo inicial, sin importar el sitio de muestra.²³

En este estudio, describimos un método de inmunohistoquímica utilizando anticuerpos anti-PPD que lamentablemente no está estandarizado ni autorizado como herramienta para el diagnóstico de enfermedades ocasionadas por micobacterias.²⁴ Durante la realización del estudio encontramos las siguientes situaciones:

1. Por tratarse de un estudio retrospectivo de pacientes que no estaban disponibles para

- reinterrogar, no fue posible buscar factores de riesgo específicos que pudieran asociarse con sospecha de infección, o realizar un cálculo estadístico de la razón de momios de algún factor de riesgo que pudiera haberse identificado como relevante durante el reinterrogatorio.
2. El no poder localizar a los pacientes nos restó la posibilidad de profundizar en los síntomas de presentación descritos en las historias clínicas, y corroborar si recibieron un diagnóstico formal de infección por micobacterias; y si, de haberlo recibido, se instituyó el tratamiento apropiado.
 3. No fue posible cotejar los resultados positivos de la inmunohistoquímica con el estándar de oro para el diagnóstico, lo cual resta validez al método empleado. A pesar de que no contamos con cultivos o tinciones para todos los casos, no podemos asegurar que dichos estudios no se hubieran realizado en otras instituciones.
 4. El reunir una muestra abundante para validar el método no fue posible y, por no tratarse de un estudio prospectivo, tampoco existió la posibilidad de realizar un método diagnóstico validado frente al cual comparar la tinción de inmunohistoquímica.

CONCLUSIONES

El método de inmunohistoquímica anti-PPD utilizado fue positivo en 37 casos. El sitio anatómico más frecuente de este hallazgo fue el pulmonar. No fue posible validar este método por tratarse de un estudio retrospectivo y por no contar con muestras para realizar cultivos o tinciones específicas para micobacterias. Deberá realizarse un estudio más grande para corroborar los hallazgos y validar el método empleado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Feizbadi et al. Genomic analysis of *Mycobacterium bovis* and other members of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by isoenzyme analysis and pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol* 1996; 34 (5): 11356-1142.
2. Paralkar V. Worlds apart - tuberculosis in India and the United States. *N Engl J Med* 2008; 358: 1055-1092.
3. Bifani et al. Origin and interstate spread of a New York City multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clone family. *JAMA* 1996; 275 (6): 452-455.
4. García-García L et al. Eficacia y eficiencia del tratamiento anti-tuberculoso en jurisdicciones sanitarias de Morelos. *Sal Pub Mex* 1998; 4 (5): 421-430.
5. Huerta et al. TAES: Tratamiento acortado estrictamente supervisado, la estrategia para controlar la tuberculosis. *Enf Infec Microbiol* 1998; 18 (2): 83-84.
6. Arenas R, Vega MM, Hojyo TM et al. Micobacteriosis atípicas: Aspectos clínico-epidemiológicos de 44 casos. *Dermatol Rev Mex* 1993; 37: 305-317.
7. Barnes et al. Transmission of tuberculosis among the urban homeless. *JAMA* 1996; 275 (4): 305-308.
8. Jasmer, Small PM, Ponce de Leon A et al. Tuberculosis in Mexican-born persons in San Francisco: Reactivation, acquired infection and transmission. *Int J Tuber Lung Dis* 1997; 1 (6): 536-549.
9. García-García ML, Small PM. Tuberculosis epidemiology and control in Veracruz, Mexico. *Int J Epidemiol* 1999; 28 (1): 135-140.
10. Small PM, Fujiwara P. Management of tuberculosis in the United States. *NEJM* 2003; 345: 189-200.
11. Villegas V, Labrada LA, Saravia N. Evaluation of polymerase chain reaction, adenosine deaminase and interferon gamma in pleural fluid for the differential diagnosis of pleural tuberculosis. *Chest* 2000; 118 (5): 118-125.
12. Burgess L, Reuter H. The use of adenosine deaminase and interferon gamma as diagnostic tools for tuberculous pericarditis. *Chest* 2002; 122 (3): 623-630.
13. Clark JE, Cant AJ. Non-pulmonary tuberculosis. *Paediatr Respir Rev* 2001; 2 (2): 113-119.
14. Geldmacher H, Taube C. Assessment of Lymph Node Tuberculosis in Northern Germany: A clinical review. *Chest* 2002; 121 (4): 245-248.
15. Eastwood JB, Corbishley C, Grange JM. Tuberculosis and the Kidney. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12 (6): 568-573.
16. Wise G, Marella V. Genitourinary manifestations of Tuberculosis. *Urol Clin N Am* 2003; 30 (1): 34-38.
17. Wong Y, Fung TY, Haines CJ. Unassisted conception with a normal pregnancy outcome in a woman with active *Mycobacterium tuberculosis* infection of the endometrium. A case report. *J Reprod Med* 1999; 44 (11): 974-976.
18. Sarkar A, Thakur S, Majumdar S. A case of tuberculous infection of the placenta. *J Indian Med Assoc* 1996; 94 (9): 355-356.
19. Lesau KD, Qarah S. Multidrug-resistant tuberculosis in pregnancy: Case review of the literature. *Chest* 2003; 123 (3): 953-956.
20. Sheer TA, Coyle WJ. Gastrointestinal tuberculosis. *Curr Gastroenterol Rep* 2003; 5 (4): 273-278.
21. Ozbey J, Tireli GA, Salaman T. Abdominal Tuberculosis in children. *Eur J Pediatr Surg* 2003; 13 (2): 116-119.
22. Want JT, Hung CC, Sheng WH. Prognosis of tuberculous meningitis in adults in the Era of modern antituberculous chemotherapy. *Microbiol Immunol Infect* 2002; 35 (4): 215-222.
23. American Thoracic Society, CDC and Infectious Diseases Society of America: Treatment of Tuberculosis: MMWR: 2003; 52 (RR11): 1-77.
24. Baquera-Heredia, Martínez-Prieto. Immunohistochemical detection of mycobacterial antigens as an aid in the rapid diagnosis of mycobacterial diseases. Proceedings of the 2nd Intercontinental Congress of Pathology Revista Medica do Paraná: 2004; 62 (poster # 107).