

¹Andrea Eugenia García-Cruz, ¹Romualdo Olvera-Castillo,
¹Nancy Manuela Hernández-Zarza, ²Bárbara Antuna-Puente,
³Laura Uribe-Campero, ^{4,5}Rodolfo Rivas-Ruiz, ⁶Jorge González-Canudas

¹Departamento de Farmacología, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

²Faculté de Médecine, Université Pierre et Marie Curie, Paris, Francia

³Desarrollo de Diagnósticos, Laboratorios Silanes, Distrito Federal, México

⁴Departamento de Epidemiología Clínica, Hospital Infantil de México "Federico Gómez", Secretaría de Salud, Distrito Federal, México

⁵Departamento de Escolares y Adolescentes, Hospital de Pediatría

⁶Departamento de Medicina Interna, Hospital de Especialidades

Autores 5 y 6, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Distrito Federal, México

Diagnóstico de tuberculosis pulmonar mediante prueba rápida inmunocromatográfica

Comunicación con: Jorge González-Canudas
 Tel: (55) 1998 1094, extensiones 2525 y 5627 6900
 Correo electrónico: jaglezc@yahoo.com.mx

Resumen

Objetivo: evaluar el desempeño de una prueba rápida inmunocromatográfica mexicana (PRIM) para la detección de tuberculosis pulmonar.

Métodos: estudio de tipo prueba diagnóstica, con muestreo por casos consecutivos en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Se consideró como estándar de oro el cultivo y los datos clínicos o radiográficos de enfermedad evidente (clase 3 de la *American Thorax Society*). A todos los pacientes se les realizó exploración física, baciloscopia, placa convencional de tórax y PRIM.

Resultados: se incluyeron 143 pacientes (edad media de 41 años): 72 clase 3 y 71 clase 2 (infección tuberculosa latente) o sanos. La sensibilidad de la PRIM fue de 79.2 % (intervalo de confianza [IC] 95 % = 67.2-87.5), la especificidad de 100 % (IC 95 % = 93.6-100), el valor predictivo positivo de 100 % (IC 95 % = 92.1-100) y el valor predictivo negativo de 82.6 % (IC 95 % = 72.5-89.6). La razón de verosimilitud positiva fue de 563 (IC 95 % = 1.15-4000.6) y la razón de verosimilitud negativa de 0.21 (0.13 a 0.33).

Conclusiones: la PRIM tuvo buena sensibilidad y alta especificidad, que demuestran el potencial de la prueba para identificar a los pacientes con tuberculosis pulmonar que requieren tratamiento.

Palabras clave

tuberculosis pulmonar
 pruebas inmunológicas
 cromatografía

Summary

Objective: to evaluate a Mexican rapid immunologic test (PRIM) for pulmonary tuberculosis (PTB).

Methods: a diagnostic test was evaluated at the National Institute of Respiratory Diseases in Mexico City. Class 3 of the American Thorax Society (ATS) for tuberculosis (TB) was considered for PTB. Physical examination, sputum smear, chest X-ray and PRIM were performed to all participants.

Results: a total of 143 patients were included (mean age was 41 years). Seventy two patients were classified as PTB and 71 as latent TB infection (LTBI) or healthy. The sensibility of the rapid immunologic test (RIT) was 79.2 % (CI 95 % = 67.2-87.5), the specificity 100 % (CI 95 % = 93.6-100), Positive predictive value (PV) 100 % (CI 95 % = 92.1-100) and negative PV 82.6 % (CI 95 % = 72.5-89.6). The positive likelihood ratio was 563 (CI 95 % = 1.15-4000.6).

Conclusions: the RIT showed a high sensibility and specificity. Results demonstrate the potential of the RIT for identifying patients with active pulmonary TB.

Key words

tuberculosis, pulmonary
 immunologic test
 chromatography

Introducción

En el mundo, la incidencia de la tuberculosis está disminuyendo lentamente (-0.6 % por 100 000 habitantes entre 2005 y 2006). Aun cuando las tasas de prevalencia de la enfermedad han caído hasta 2.8 % entre 2005 y 2006,¹ se presentaron 9.2 millones de casos nuevos en 2007 y 3 millones de perso-

nas murieron como consecuencia de esta patología.^{2,3} En México, el problema no es menor y en 2008 se detectaron 14 986 casos de tuberculosis pulmonar.⁴

Una de las herramientas más útiles para el control de la tuberculosis es la identificación oportuna con el fin de mejorar las tasas de éxito terapéutico, así como disminuir el riesgo de infección de contactos y con ello evitar la diseminación

de la enfermedad.⁵⁻⁸ Por esta razón, la mejor manera de reducir la transmisión de la infección por *M. tuberculosis* es tratar a los pacientes con baciloscopias positivas de manera temprana, ya que un solo paciente puede infectar entre 10 y 14 personas por año, y se calcula que de éstos uno de cada 10 desarrollará la enfermedad.⁹

Hasta el momento, el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar se fundamenta en la integración del cuadro clínico, datos radiológicos, prueba de la tuberculina y, principalmente, baciloscopia en serie de tres; en algunos casos también se realiza cultivo. Estas dos últimas pruebas requieren personal capacitado, además de la cooperación del paciente para la toma adecuada de la muestra y de tiempo en el caso del cultivo. Debido al alto costo de las pruebas, en México se utiliza principalmente el cultivo ante falla terapéutica y en pacientes con sospecha de infección por micobacterias atípicas y tuberculosis extrapulmonares,¹⁰ sin embargo, existen otras técnicas moleculares (PCR, serología para *Mycobacterium tuberculosis*) con alta sensibilidad para la detección de *M. tuberculosis*.^{11,12} Dichos sistemas han pasado por muchas etapas de desarrollo y ninguno se utiliza rutinariamente en la detección de infección por *M. tuberculosis*. La prueba más usada en el mundo en los pasados 100 años es el PPD (derivado proteico purificado), que utiliza como antígeno un extracto crudo de *Mycobacterium tuberculosis*, y que puede provocar resultados con reacciones falsas positivas debido a la vacunación previa con el bacilo de Calmette-Guerin (BCG). La especificidad de esta prueba es de 66 % (IC 95 % = 46-86 %) y disminuye en los pacientes vacunados con BCG a 56 % (34 a 78 %),^{13,14} por lo que su uso en países con población vacunada debe tomarse con reserva.

Otro problema del PPD es la variabilidad entre los observadores de la lectura de la prueba,¹⁵ lo que limita su uso a personal altamente capacitado o a proyectos de investigación.¹⁶ Tomando en cuenta estos problemas, desde hace algunos años se han desarrollado nuevas tecnologías basadas en la detección de anticuerpos circulantes contra diversos antígenos del *Mycobacte-*

rium tuberculosis con resultados poco alentadores debido a la falta de especificidad y en muchos casos baja sensibilidad, lo cual hace que no califiquen como pruebas de escrutinio.¹⁷

Desde la introducción de ensayos inmunoenzimáticos en fase sólida (ELISA) en 1972, los anticuerpos monoclonales y los antígenos purificados han brindado un enfoque más prometedor al diagnóstico serológico de la tuberculosis.¹⁸ Los antígenos proteicos purificados más utilizados para el diagnóstico serológico son el antígeno 60 (A60), el antígeno 38 y el Kp90. Se reporta que los anticuerpos contra A60 (de BCG) en ELISA pueden detectar enfermos con tuberculosis con una sensibilidad y especificidad aproximada de 65 y 95 %, respectivamente.^{19,20} En el ELISA los resultados son variables y en general presenta una especificidad de 92 % (88 a 95 %).²¹ Además, los anticuerpos IgG contra este antígeno sugieren infección activa y los anticuerpos IgM e IgA son especialmente útiles en el diagnóstico de tuberculosis en pacientes pediátricos.¹⁸ El inconveniente radica en que estas técnicas son costosas y requieren personal capacitado e instrumentación específica, por lo que su uso en la práctica habitual no es universal en países en desarrollo como el nuestro. Y es en este último punto donde las pruebas rápidas cobran importancia, ya que requieren poco equipo, la capacitación del personal es rápida y son de fácil aplicación en zonas rurales de difícil acceso. Con las pruebas rápidas se han reportado sensibilidades de 57 a 89 % y especificidades de 65 a 100 %, pero su mayor éxito se ha observado en pacientes con baciloscopia positiva, es decir, su mayor utilidad es como prueba de confirmación.

En nuestro país se ha desarrollado una prueba rápida basada en el principio de inmunocromatografía de flujo lateral para la detección cualitativa de anticuerpos contra micobacterias, llamada *prueba inmunológica rápida mexicana* (PRIM). Esta prueba utiliza una combinación de tres antígenos purificados inmovilizados en un soporte sólido. Si en la muestra (suero o plasma) existen anticuerpos específicos contra tuberculosis, reaccionarán con un reactivo revelador, formando un complejo colorido visible que fluirá a lo largo de la tira y quedará atrapado por los antígenos en la zona de la prueba, produciendo una línea de color púrpura fácilmente visible e identificable (figura 1). Esta prueba reconoce de manera específica anticuerpos contra *Mycobacterium tuberculosis* y es prometedora por su facilidad de uso en la práctica clínica, motivo por el que realizamos el presente estudio para validar su uso en pacientes mexicanos con sospecha de tuberculosis pulmonar.

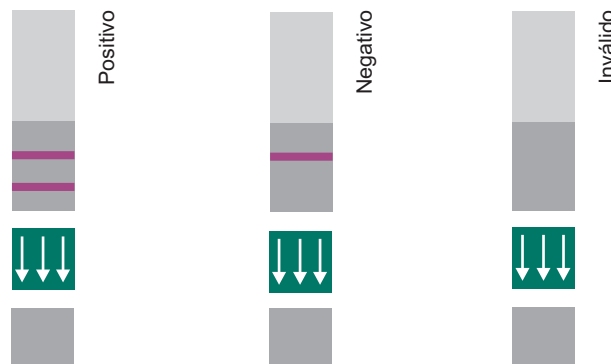


Figura 1 | Ejemplo de los tres posibles resultados en la prueba rápida inmunológica

Métodos

Previa aprobación del comité local de bioética se realizó un estudio transversal, analítico, tipo prueba diagnóstica, en pacientes con tuberculosis pulmonar que acudían al Departamento de Epidemiología del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, de donde eran referidos a otros nosocomios. Así se incorporó a los familiares y contactos de los pacientes con tu-

Cuadro I | Clasificación de tuberculosis de la *American Thoracic Society*

Clase	Situación	Descripción
0	No exposición, no infección	No historia de exposición, PPD negativo
1	Exposición, no infección	Historia de exposición, PPD negativo
2	Infección, no enfermedad latente	PPD positivo, estudios bacteriológicos negativos, no evidencia clínica ni radiológica
3	Enfermedad actual	Cultivo de <i>M. tuberculosis</i> o PPD positivo y datos clínicos o radiológicos evidentes de enfermedad
4	Enfermedad previa	Historia de episodio previo o hallazgos radiológicos anormales pero estables, PPD positivo y estudios bacteriológicos negativos y no evidencia clínica ni radiológica de enfermedad
5	Sospecha de tuberculosis	En estudio, pendiente de diagnóstico

TB = tuberculosis, PPD = purificado derivado de proteína (prueba de tuberculina)

berculosis pulmonar y se invitó, además, al personal médico del Instituto expuesto a pacientes con tuberculosis y a sujetos no enfermos.

Conforme los principios éticos para investigaciones en seres humanos de la Declaración de Helsinki de 1975, acuerdo que al respecto emitió la Secretaría de Salud, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 26 de enero de 1982, todos los participantes firmaron una carta de consentimiento informado.

Participantes

Se aplicó un cuestionario, el cual evaluaba datos epidemiológicos del sujeto. A todos los participantes se les realizó cultivo y se aplicó PPD. De acuerdo con los resultados, fueron estratificados utilizando la clasificación de la *American Thorax Society*.²² De acuerdo con esa escala se consideró como estándar de oro la clase 3 (cuadro I). El corte para considerar infección tuberculosa latente fue un resultado del PPD ≥ 10 mm. Se incluyeron los pacientes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias con tuberculosis (ya conocidos) y como controles a familiares y a médicos del servicio.

Se excluyeron los pacientes con otras enfermedades como diabetes mellitus, los sujetos con infección por el virus de inmunodeficiencia humana y los pacientes con tuberculosis extrapulmonar y lepra.

Intervención

La técnica para la realización de la prueba rápida fue de la siguiente manera: previa antisepsia se realizó una punción en el pulpejo del dedo índice de la mano izquierda, se tomaron 10 mL

de sangre con una pipeta de volumen exacto y se agregaron en la parte superior del cojinete de muestra; de inmediato se agregaron cuatro o cinco gotas del diluyente en la parte inferior y se esperó al menos 15 minutos para la interpretación de la misma. La aparición de dos líneas indicó un resultado positivo, mientras que la aparición de una sola línea indicó un resultado negativo. Si la línea control no se visualizó se consideró un resultado inválido (figura 1). Los resultados se leyeron e interpretaron por separado por dos observadores que ignoraban el diagnóstico del paciente.

La técnica para la aplicación del PPD fue la siguiente: previa limpieza de la cara dorsal anterior del brazo se realizó una punción subcutánea con jeringa de 1 ml graduada en décimas, se aplicó 0.1 mL de PPD (5 TU) y se realizó la lectura de la prueba a las 72 horas.

Análisis estadístico

Se estimó el tamaño de la muestra con la fórmula de diferencia de proporciones en dos grupos independientes, para encontrar un incremento de la sensibilidad de 24 % y para detectar a los pacientes con tuberculosis pulmonar activa, tomando en cuenta que pruebas similares muestran sensibilidad máxima de 57 % con una confianza (1-alfa) de 95 % y un poder (1-beta) de 80 %, con lo que se estimó que se requerían mínimo 140 pacientes (dos grupos de 70). Se realizó el análisis descriptivo de la población. La concordancia entre los observadores de la PRIM se calculó mediante la prueba de kappa simple. El estándar de oro fue el cultivo y el diagnóstico de tuberculosis pulmonar según la *American Thorax Society*, que se contrastó con el resultado de la prueba rápida

Cuadro II | Resultados de la prueba rápida inmunológica al comparar la clase 2 ATS con la clase 3

Resultado de la PRIM	Estándar de oro		Total
	Enfermos TBP activa (clase 3)	No enfermos (clases 0,1, 2)	
Positivos	57 ^a	0 ^b	57
Negativos	15 ^c	71 ^d	86
	72	71	143
Total	Sensibilidad 79.2 (IC 95 % = 67-87)	Especificidad 100 (IC 95 % = 93.6-100)	

ATS = American Thoracic Society, clase 2 = infectados sin enfermedad, clase 3 = enfermos de tuberculosis, TBP = tuberculosis pulmonar, sensibilidad = $a/a + c$, especificidad = $d/b + d$, VPP = valor predictivo positivo = $a/a + b$, VPN = valor predictivo negativo = $d/c + d$, razón de verosimilitud positiva = $sensibilidad/(1-especificidad)$

^averdaderos positivos, ^bfalsos positivos, ^cfalsos negativos, ^dverdaderos negativos

Debido a que una celda contenía un 0, se sumó 0.1 a todas las celdas para realizar los cálculos

inmunológica (PRIM). Se utilizó el teorema de Bayes para el cálculo de la sensibilidad, la especificidad, los valores predictivos positivos y negativos, así como las razones de verosimilitud positiva y negativa. En cada una de las mediciones se calcularon intervalos de confianza de 95 %. Finalmente se

graficó un nomograma de Fagan. Si se encontró un cero en alguna celda de la tabla de 2×2 , se sumó 0.1 a cada una de las casillas.

Resultados

Se incluyeron 176 pacientes, de los cuales 78 (44.3 %) fueron hombres. La mediana de edad de la población fue de 41 años (mínimo 11 y máximo 77 años). Procedían del Distrito Federal 66 participantes (37.5 %), del Estado de México 41 (23.3 %), de Veracruz 14 (8 %), de Guerrero 13 (7.4 %) y de Oaxaca nueve (5.1 %); el resto provenía de estados cercanos al Distrito Federal. Se excluyeron 31 pacientes con diabetes y dos por no tener placa convencional de tórax o alguna de las pruebas rápidas. En total se excluyeron 33 pacientes, 18 % de la muestra inicial.

Finalmente se estudiaron 143 pacientes, de los cuales 72 (prevalencia de 51 %) presentaron tuberculosis pulmonar (clase 3), 52 (36 %) presentaron infección tuberculosa latente (clase 2) y 19 fueron completamente sanos (clases 0 y 1). La concordancia (kappa) de la lectura del resultado (positivo o negativo) de la PRIM entre los dos observadores de la prueba rápida inmunocromatográfica mexicana fue de 0.83.

En el grupo de tuberculosis pulmonar se identificaron 57 (79 %) pacientes como verdaderos positivos a la prueba rápida y 15 (21 %) fueron negativos (falsos negativos). Mientras que en el de infección tuberculosa latente todos los pacientes fueron negativos a la prueba rápida inmunocromatográfica mexicana, por lo tanto la sensibilidad de la prueba fue de 79.2 % (IC 95 % = 67.2-87.5), la especificidad de 100 % (IC 95 % = 93.6-100), el valor predictivo positivo de 100 % (IC 95 % = 92.1-100) y el valor predictivo negativo de 82.6 % (IC 95 % = 72.5-89.6) (cuadro II). La razón de verosimilitud positiva fue de 563 (IC 95 % = 1.15-4000.6) y la razón de verosimilitud negativa de 0.21 (0.13 a 0.33) (figura 2).

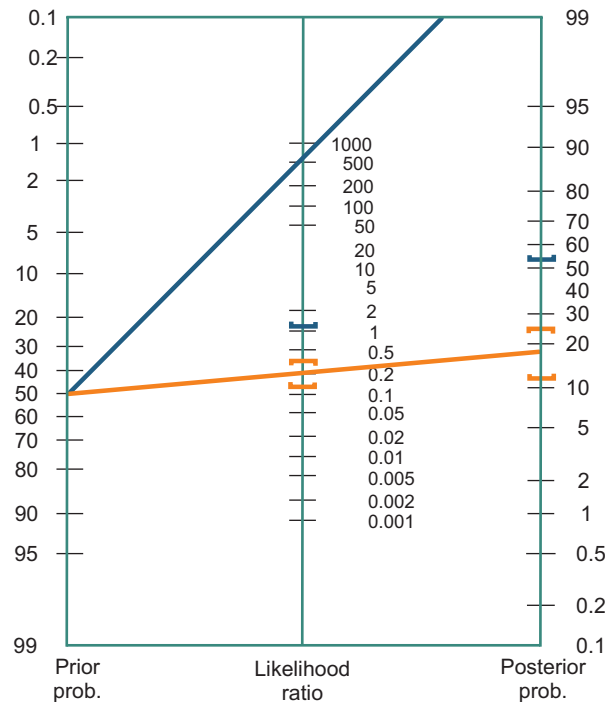


Figura 2 | Nomograma de Fagan con coeficiente de verosimilitud positivo 563 (azul) y verosimilitud negativo de 0.21 (anaranjado), que ejemplifica la probabilidad posprueba, con una probabilidad preprueba de 50 %. Los corchetes señalan el intervalo de confianza de 95 %.

Discusión

El avance tecnológico en materia de diagnóstico de tuberculosis durante los últimos años ha sido pobre, y un ejemplo de ello es que la prueba cutánea de tuberculina ha sido utilizada desde hace más de 100 años.²³ Esta prueba, a pesar de haber comprobado su utilidad, tiene alta prevalencia de resultados falsos positivos en poblaciones como la nuestra, vacunada con BCG y sensibilizada contra otras micobacterias,¹⁶ por lo que resulta poco útil para la detección de tuberculosis activa en la población general. Debido a esto, desde hace más de un siglo se ha empleado la baciloscopia junto con el cultivo como únicos métodos de diagnóstico de la enfermedad,²⁴ que requieren la completa cooperación del paciente para la obtención de una muestra adecuada, lo que no siempre es fácil, sobre todo en los niños y pacientes con incapacidad para expectorar, además de necesitarse un laboratorio equipado y personal experimentado y tiempo considerable para obtener un resultado (cultivo).

En nuestro país, como en otros en desarrollo, los laboratorios resultan insuficientes para identificar los posibles casos. Ésta es una razón importante para buscar el desarrollo de técnicas más sencillas y accesibles para la detección de la tuberculosis.

En este estudio se evaluó la sensibilidad y la especificidad de un sistema inmunocromatográfico de flujo lateral para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar activa en sangre total de pacientes con tuberculosis pulmonar activa, pacientes con infección tuberculosa latente (PPD positivos) y sujetos aparentemente sanos. Esta prueba es sencilla y no requiere equipo ni personal experimentado para su aplicación, además de contar con una buena reproducibilidad ($\kappa = 0.83$). La prueba muestra una sensibilidad de 79.2 %, con una especificidad alta (100 %), es decir, tiene alta probabilidad de identificar a los sujetos que no tienen la enfermedad cuando verdaderamente no la tienen.

Por otro lado, el valor predictivo positivo también es de 100 %, lo cual significa que los pacientes con síntomas respiratorios y prueba positiva tienen una probabilidad de 100 % de tener la enfermedad. Esto se traduce en la seguridad de que los pacientes con tuberculosis pulmonar recibirán el tratamiento apropiado, lo que es especialmente útil en esta enfermedad, donde el inicio temprano del tratamiento es de vital importancia.

Además, en el estudio se demuestra que con la prueba rápida se obtienen resultados similares en pacientes de todos los estratos de la clasificación de la *American Thorax Society* y que no provoca reacción cruzada con sujetos vacunados ni en pacientes infectados o que ya han presentado la enfermedad (clase 4), es decir, el rendimiento de la prueba es similar en las distintas clases. Otro dato útil del presente estudio es que todos los pacientes con infección tuberculosa latente obtuvieron un resultado negativo en la prueba rápida, por lo que ésta podría ser de gran utilidad para el estudio de contactos.

Los resultados de esta prueba resultan alentadores para poblaciones vacunadas y provenientes de poblaciones con

una incidencia alta de tuberculosis como México, pudiendo ser una herramienta para los clínicos que se desempeñan en las poblaciones rurales o de pocos recursos para fundamentar su diagnóstico y tratamiento oportunos. También consideramos que pudiera ser un auxiliar de las pruebas que se realizan hoy en día para mejorar la precisión del diagnóstico.

Una de las desventajas de los métodos serológicos es que éstos reportan una porción importante de resultados falsos negativos. En nuestro estudio, el porcentaje de falsos negativos fue de 17.4 %, cifra similar a la de otros reportes en la literatura.²⁵⁻²⁷ Este resultado se ha relacionado tanto con la variabilidad en la respuesta inmunológica de *M. tuberculosis* a diferentes antígenos, como con la seronegatividad de algunos individuos (aproximadamente 30 %), principalmente en los ancianos, debido posiblemente a que estos pacientes cursan con cierta inmunodepresión de tipo humoral.²⁸

El estudio tuvo como mayor limitante el sesgo de referencia por haber usado la población de un hospital de concentración y de tercer nivel de atención, lo que no proporciona una idea real de la situación epidemiológica de la tuberculosis en el país y los resultados de la prueba rápida pueden verse modificados al ser utilizada en poblaciones rurales. Con el fin de estimar la importancia de este sesgo, se calcularon las razones de verosimilitud, que mostraron que la prueba puede ser empleada con alta precisión teórica incluso en poblaciones con menor prevalencia a la aquí estudiada (figura 1).²⁹

Los resultados indican claramente que el dispositivo puede ser de gran utilidad en la detección de tuberculosis pulmonar activa en zonas donde la baciloscopia y el cultivo son prácticamente imposibles. Además, no tiene reacción cruzada con personas vacunadas con BCG e incluso en pacientes que ya tuvieron la enfermedad y están convalecientes. Será interesante valorar su empleo en estudios de campo como instrumento de detección de tuberculosis entre los pacientes con síntomas respiratorios y los contactos de pacientes con la enfermedad.

Está claro que se requieren más investigaciones donde se evidencie la utilidad de la prueba rápida, sobre todo de seguimiento, donde se pueda determinar la reducción del riesgo tanto para disminuir la mortalidad como la morbilidad al utilizar la prueba, sin embargo, este estudio muestra una herramienta rápida y de fácil lectura que puede ser muy útil en el manejo oportuno de los pacientes y, por lo tanto, indispensable para la lucha contra la tuberculosis pulmonar.

Declaración de conflicto de interés

Los autores completaron y anexaron al artículo el formulario de declaración de potencial conflicto de interés, donde únicamente se identifica la relación laboral de Laura Uribe Campero con los Laboratorios Silanes en el área de Desarrollo de Diagnósticos.

- *Fondos/apoyos*: los autores recibieron como apoyo de los Laboratorios Silanes, las tiras reactivas utilizadas en el estudio, así como la asesoría técnica de Laura Uribe Campero para la utilización de este material.
- *Participación del patrocinador*: los Laboratorios Silanes no participaron en el diseño, conducción del estudio, recolección, análisis e interpretación de resultados, ni en la preparación, revisión o aprobación del escrito.

Referencias

1. Donald PR, van Helden PD. The global burden of tuberculosis—combating drug resistance in difficult times. *N Engl J Med* 2009;360(4):2393-2396.
2. World Health Organization. Global tuberculosis control: surveillance, planning and financing. WHO report 2007. Geneva: WHO; 2007. Disponible en http://www.who.int/tb/publications/global_report/2007/pdf/full.pdf
3. World Health Organization. Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing: WHO report 2009. Geneva: WHO; 2009. (Publication no. WHO/HTM/TB/2009. 411).
4. CENAVECE Epidemiología. México: Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud. Boletín epidemiológico Semana 53 (28 de diciembre de 2008 al 3 de enero de 2009.) Disponible en <http://www.dgepi.salud.gob.mx/boletin/2008/sem53/>
5. Small PM, Fujiwara PI. Management of tuberculosis in the United States. *N Engl J Med* 2001;345(3):189-200.
6. Jasmer RM, Nahid P, Hopewell PC. Latent tuberculosis infection. *N Engl J Med* 2002;347(23):1860-1862.
7. Pottumarthy S, Wells V, Morris JA. A comparison of seven tests for serological diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2000;38(6):2227-2231. Disponible en <http://jcm.asm.org/cgi/reprint/38/6/2227>
8. Lauzardo M, Ashkin D. Phthisiology at the Dawn of the new century. *Chest* 2000;117(5):1455-1473. Disponible en <http://chestjournal.chestpubs.org/content/117/5/1455.long>
9. Soudre P, ten Dam G, Kochi A. Tuberculosis: a global overview of the situation today. *Bull World Health Organ* 1992; 70(2):149-159. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2393290/?tool=pubmed>
10. Williams G, Alarcón E, Jittimane S, Walusimbi M, Sebek M, Berga E, et al. Prácticas óptimas en la atención a los pacientes con tuberculosis. Una guía destinada a países de bajos ingresos. *UICTER* 2007:13-16.
11. Watterson SA, Drobniowski FA. Modern laboratory diagnosis of mycobacterial infections. *J Clin Pathol* 2000;53 (10):727-732.
12. 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(1):53-58. Disponible en <http://cvi.asm.org/cgi/reprint/13/1/53>
13. Grzybowski S. Ontario studies on tuberculin sensitivity. *Can J Public Health* 1965;56:181-192.
14. 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(22):2756-2761. Disponible en <http://jama.ama-assn.org/content/293/22/2756.long>
15. Chaparas SD, Vandiviere HM, Melvin I, Koch G, Becker C. Tuberculin test. Variability with the mantoux procedure. *Am Rev Respir Dis* 1985;132(1):175-177.
16. Pouchot J, Grasland A, Collet C, Coste J, Esdaile JM, Vinceneux P. Reliability of tuberculin skin test measurement. *Ann Intern Med* 1997;126(3):210-214. Disponible en <http://www.annals.org/content/126/3/210.full.pdf>
17. 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(5):340-354. Disponible en <http://www.annals.org/content/146/5/340.full.pdf+html>
18. Wanchu A, Dong Y, Sethi S, Myneedu VP, Nadas A. Biomarkers for clinical and incipient tuberculosis: performance in a TB-endemic country. *Plos one* 2008;3(4):e2071. Disponible en <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0002071>
19. Delacourt C, Gobin J, Gaillard JL, de Blic J, Veron M, Scheinmann P. Value of ELISA using antigen 60 for the diagnosis of tuberculosis in children. *Chest* 1993;104(2): 393-398. Disponible en <http://chestjournal.chestpubs.org/content/104/2/393.full.pdf+html>
20. Grubek-Jaworska H, Zwolska Z, Droszcz P, Rybus L, Dabrowski A, Droszcz W. Serum and bronchoalveolar IgG against A60 and 38 kDa antigens in the diagnosis of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 1997;1(6):556-562.
21. Demkow U, Filewska M, Michalowska-Mitczuk D, Kus J, Jagodzinski J, Zielonka T, et al. Heterogeneity of antibody response to mycobacterial antigens in different clinical manifestations of pulmonary tuberculosis. *J Physiol Pharmacol* 2007;58 Suppl 5 (Pt 1):117-127. Disponible en http://www.jpp.krakow.pl/journal/archive/11_07_s5/pdf/117_11_07_s5_article.pdf
22. American Thoracic Society Medical Section of American Lung Association. *A Rev Resp Dis* 1990;142:725-735.
23. Mantoux MC. La voie intradermique en tuberculinothérapie. *Press Med* 1912;20:146-148.
24. Dunlap N, Bass J, Fujiwara P, Hopewell P, Horsburgh R, Salfinger, Simone P. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Resp Crit Care Med* 2000;161.(4 Pt 1): 1376-95. Disponible en <http://ajrcm.atsjournals.org/cgi/reprint/161/4/1376>

25. Shamsuzzaman AK, Akhter S, Shamsuzzaman SM, Siddique A. Comparison between ELISA and ICT-MycoDot in adult pulmonary tuberculosis. *Mymensingh Med J* 2006;15(1):33-39.
26. Bartoloni A, Strohmeyer M, Bartalesi F, Messeri D, Tortoli E, Farese A, et al. Evaluation of a rapid immunochromatographic test for the serologic diagnosis of tuberculosis in Italy. *Clin Microbiol Infect* 2003;9 (7):632-639. Disponible en <http://www.mycobactoscana.it/Testi/sierol.pdf>
27. Ongut G, Ogunc D, Gunseren F, Ogus C, Donmez L, Colak D, et al. Evaluation of the ICT tuberculosis test for the routine diagnosis of tuberculosis. *BMC Infect Dis* 2006;6:37. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1402301/>
28. Howard WL, Klopfenstein MD, Steining WJ, Woodruff CE. The loss of tuberculin sensitivity in certain patients with active pulmonary tuberculosis. *Chest* 1970;57(6):530-534. Disponible en <http://chestjournal.chestpubs.org/content/57/6/530>
29. Talavera JO, Wachter-Rodarte NH, Rivas-Ruiz R. Investigación clínica II. Estudios de proceso (prueba diagnóstica). *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2011;49(2):163-170. Disponible en http://201.144.108.128/revista_medica/index.php?option=com_multicategories&view=article&id=1387:investigacion-clinica-ii-estudios-de-proceso-prueba-diagnostica&Itemid=656