



Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB), Corporación Corpogen, Universidad de Antioquia, Corporación Universitaria Remington, Universidad Pontificia Bolivariana

Secretaría Seccional de Salud y Protección Social de Antioquia, Secretaría de Salud de Medellín, Secretaria de Salud de Bello, Secretaria de Salud de Itagüí.

Programa: “Atención de niños contacto de pacientes con tuberculosis pulmonar: contribución a la actualización de los lineamientos nacionales a partir de la evidencia internacional disponible y de la generación de nueva evidencia local”

Código Minciencias 221384266993

Manual de Procedimientos

Contenido

1. Estandarización del personal.....	2
2. Captación de niños.	3
3. Evaluación clínica inicial de los niños captados.....	5
4. Medición de peso y talla.	7
5. Toma de muestra de sangre y prueba de cuantificación de la producción de interferón gamma.	9
6. Realización de prueba de tuberculina.....	16
7. Lectura estandarizada de radiografía de tórax.	18
8. Seguimiento presencial de los niños captados.	21
9. Seguimiento telefónico de los niños captados.	23
10. Toma de muestra de esputo inducido.	24
11. Realización de aspirado de jugo gástrico.	25
12. Recolección de muestra de materia fecal.....	26
13. Recolección y almacenamiento de muestra de orina.	28

1. Estandarización del personal.

Código	Procedimiento estandarización del personal que participará en el estudio.	

Objetivo: Describir el procedimiento para la estandarización del personal que participará en el estudio.

Alcance: Este procedimiento se utilizará para la capacitación y estandarización de todo el personal que participará en el estudio, tanto en la recolección de los datos como en las evaluaciones clínicas, controles telefónicos y procesamiento de la información.

Responsables: Investigador principal, Coinvestigadores, personal de apoyo, Estudiantes.

Procedimiento:

1. Presentar el proyecto a las personas participantes en la recolección de la información, que incluye los seguimientos telefónicos y presenciales, al igual que las evaluaciones clínicas.
2. Presentar los manuales de procedimientos, socializarlos y aclarar alguna duda que se pudiera generar al respecto.
3. Realizar reuniones periódicas en lo posible semanales, para determinar si existe alguna limitación en la aplicación del manual de procedimientos y proceder a solucionarlo durante el desarrollo del proyecto.
4. Verificar que los manuales de procedimientos se estén aplicando de la manera indicada, mediante la revisión de los instrumentos de recolección de la información.

2. Captación de niños.

Código	Procedimiento captación de niños convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar.	

Objetivo: Estandarizar el procedimiento para la captación de niños menores de cinco años convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar con diagnóstico bacteriológico.

Alcance: Este procedimiento se utilizará para estandarizar la captación de los niños menores de cinco años convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar, estableciendo contacto con las instituciones de salud.

Responsables: Investigador principal, Estudiante de Doctorado, Médico, Auxiliar de enfermería.

Procedimiento:

1. Establecer contacto con el encargado del programa de control de tuberculosis de las Secretarías de Salud de Medellín, Bello e Itagüí.
2. Recibir semanalmente la información suministrada sobre los niños menores de cinco años convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar recientemente diagnosticados, reportados, y captados mediante las acciones de vigilancia epidemiológica establecidas, por el programa de control tuberculosis de las Secretarías de Salud de Medellín, Bello e Itagüí.
3. Contactar telefónicamente a los padres o responsables de los niños reportados por el programa de tuberculosis e informarles que:

“Mi nombre es –nombre de quien realiza la llamada telefónica– médico/auxiliar de enfermería la Corporación para Investigaciones Biológicas CIB, estamos realizando un estudio para captar y seguir a los niños menores de cinco años convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar con el fin de realizar una evaluación y seguimiento del tratamiento para infección latente por tuberculosis en quienes lo requieran”

“Le solicito me autorice a invitarlos a participar en un estudio de seguimiento del tratamiento que se suministra a estos niños, para prevenir la aparición de enfermedad por tuberculosis en ellos”.

Realizar las preguntas necesarias para diligenciar los formatos 1, 2 y 3 de recolección de información, luego invitarlo a la evaluación clínica del niño:

“¿Es posible para usted asistir con el niño a una evaluación médica en la Institución –nombre de la institución–?”

En caso afirmativo asignar la cita con fecha, hora y confirmar consultorio, si ya fue asignado, además indicar que debe llevar toda la historia clínica que posea del niño y si es posible del caso índice, además carné de vacunas y registro del niño.

De ser necesario puede explicar que se dará un apoyo a pasajes equivalente a los pasajes de ida y regreso para dos personas.

4. Solicitar al padre o representante legal del niño su participación en el estudio, la cual quedará plasmada en el consentimiento informado escrito, que se explica nuevamente previo a la evaluación clínica.

3. Evaluación clínica inicial de los niños captados

Código	Procedimiento para la evaluación clínica inicial de los niños captados para el estudio.	

Objetivo: Estandarizar el procedimiento para la evaluación clínica inicial a los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar, que hayan sido captados.

Alcance: Este procedimiento se utilizará para realizar la evaluación clínica inicial a los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar, que hayan sido captados en el estudio.

Responsables: Estudiante de Doctorado, Médico, Pediatra Infectólogo, Auxiliar de enfermería

Procedimiento:

1. Realizar clasificación (triage) del sintomático respiratorio, dos o tres días antes de la atención, se hará contacto telefónico con el acudiente del paciente y se indagará sobre criterios clínicos y epidemiológicos relacionados tanto con COVID – 19 como con tuberculosis. En caso de que presente síntomas, se indicará que deberá cambiar de acompañante, de no ser posible se modificará la cita. Para la modificación de la cita, se realizará nuevamente una llamada telefónica a las dos semanas siguientes, y se volverán a realizar las preguntas antes mencionadas. En caso de tener las respuestas negativas, se procederá a asignar la fecha y la hora de la consulta. Será obligatorio el uso de tapabocas o mascarilla quirúrgica.
2. El personal del proyecto que atienda al participante, deberá utilizar mascarilla de alta eficiencia (N95). Esta mascarilla será suministrada por el proyecto. Almacenar la mascarilla en una bolsa de papel. Llevar registro escrito de su uso. Cambiar la mascarilla luego de 24 horas de uso.
3. Realizar el proceso de consentimiento informado, explicar a los padres y/o representantes del niño de qué se trata el estudio, aclarar todas las inquietudes que se presenten, y culminar el proceso con la lectura y firma del consentimiento informado.
4. Hacer la evaluación clínica del niño (formato de recolección de información 4).
5. El médico debe realizar anamnesis completa, que incluya revisión por sistemas, para detectar síntomas respiratorios o algún otro sugestivo de tuberculosis activa, o en caso que se haya iniciado el tratamiento para infección latente por tuberculosis, la presencia de reacciones adversas; antecedentes personales, con verificación del carne de vacunación (constatar antecedente de vacunación con BCG), examen físico completo con verificación de la cicatriz de BCG (cicatriz superficial de 2 – 10 mm de diámetro, con depresión en el centro, ubicada en deltoides o espalda, cualquier lado), medición de talla y peso.

6. Ordenar la realización de prueba de tuberculina y prueba de cuantificación de la producción de interferón gamma (IFN γ).
7. Ordenar radiografía de tórax, si la radiografía de tórax es normal, ingresar al niño para continuar el seguimiento en el estudio, a los niños que requieran tratamiento para tuberculosis latente ofrecerles participar en la estrategia de cuidado integral con rifampicina vía oral diaria por cuatro meses (10mg/kg de peso/día) hasta completar la cohorte de 83 niños, con seguimiento en el proyecto y demás componentes de esta estrategia.
8. Si el niño presenta síntomas respiratorios compatibles con tuberculosis activa, ordenar la realización de esputo inducido, aspirado de jugo gástrico, toma de muestras de orina y materia fecal para baciloscopia, cultivo y GeneXpert MTB/RIF Ultra, que será realizado por la investigación, y definir la conducta a seguir según el resultado.
9. Indicar al responsable del niño, llevar un registro de los posibles efectos relacionados con el tratamiento para infección latente por tuberculosis que está recibiendo o recibirá el niño. Instruir acerca de las reacciones que podrían considerarse severas, para que en lo posible sean reportadas telefónicamente en el momento de ocurrencia.

4. Medición de peso y talla.

Código	Procedimiento para la medición de peso y talla.	

Objetivo: Estandarizar el procedimiento para la medición de peso y talla.

Alcance: Este procedimiento se utilizará para las mediciones de peso y talla realizadas en las evaluaciones clínicas inicial, del tercer y sexto mes, a los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar bacilífera, captados en el estudio que se encuentran en tratamiento para infección latente por tuberculosis.

Responsables: Estudiante de Doctorado, Médico, Pediatra Infectólogo, Auxiliar de Enfermería.

Procedimiento:

1. Calibración de los instrumentos de medición: la báscula, la cinta métrica y el tallímetro deberán estar debidamente calibrados.
2. Ubicar la báscula en una superficie plana y rígida. Calibrar la aguja marcando cero, repetir el proceso cada vez que se pesa a un niño.
3. Medir el peso, con el niño en ropa interior. Ubicar al menor en el centro de la báscula con los brazos a los lados, cabeza erguida y mirada al frente.
4. Registrar el peso en kilogramos.
5. Cinta métrica: Estará completa en sus números. Se situará en un lugar plano, sobre una pared o superficie lisa y verticalmente de tal manera que el cero de la cinta quede exactamente al ras del suelo.
6. Medir la talla con el niño descalzo. La cabeza, hombros, caderas y talones juntos deberán estar pegados a la pared bajo la línea de la cinta métrica. Los brazos deben colgar libre y naturalmente a los costados del cuerpo. Trazar una línea horizontal imaginaria sobre la parte superior de la cabeza hacia la cinta métrica y tomar la medida.
7. Registrar la talla en centímetros.
8. En caso de evaluar niños menores de un año, la talla debe ser medida mediante un tallímetro. El tallímetro consiste en una regla ancha graduada que tiene en el extremo donde comienzan los números una tabla delgada colocada en escuadra, que es donde tope la cabeza del niño. Esta regla tiene una ranura en el centro en la cual se coloca otra regla angosta, del ancho de la ranura, que tiene una tabla en un extremo. La regla angosta se introduce por el extremo opuesto a la tabla, dentro de la ranura, empujándola hasta lograr que la tabla tope los talones del niño.
9. Se necesita una persona que sujete al niño y otra que realice la medición. Se coloca el tallímetro sobre una mesa. Se acuesta al niño de espaldas, rosando suavemente con la cabeza, la tabla adherida al extremo izquierdo del tallímetro. Se sujeta la cabeza del niño con una mano y con la otra se le sujetan las rodillas para que los talones queden fijos. Cuando el niño está en correcta posición, la persona que realiza la medición empuja la regla angosta o marcador hasta tocar

con él los talones del niño. La presión que se ejerce debe ser uniforme para evitar variaciones. Sin moverlo, observar la medida que marca la regla graduada.

10. Se registra la talla en centímetros y se retira al niño.

5. Toma de muestra de sangre y prueba de cuantificación de la producción de interferón gamma.

Código	Procedimiento para la toma de muestra de sangre y prueba de cuantificación de la producción de interferón gamma.	

Objetivo: Estandarizar el procedimiento para la toma de muestra de sangre y realización de prueba de cuantificación de la producción de interferón gamma (IFN γ) a los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar.

Alcance: Este procedimiento se utilizará para la toma de muestra de sangre y realización de prueba de cuantificación de la producción de IFN γ a los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar, al inicio del estudio. También al finalizar tratamiento para TB activa en los niños que lo requieran, se tomará muestra de sangre para biomarcadores

Responsables: Estudiante de Doctorado, Pediatra Infectólogo, Médico, Auxiliar de Enfermería, Auxiliar de Laboratorio.

Procedimiento:

1. La punción para obtener sangre la realizará personal entrenado y con previa estandarización de estos procedimientos, para disminuir el riesgo mínimo que pueda existir al practicarlos.
2. La primera toma de muestra de sangre (al inicio) para la prueba de cuantificación de la producción de IFN γ se debe realizar previo a la aplicación de la prueba de tuberculina. En la misma punción se tomará una muestra para estudio de biomarcadores.
3. Se tomará una muestra de sangre de 7 ml, a través de una punción en la vena.
4. Se utilizarán agujas desechables que previenen el riesgo de transmisión de enfermedades.
5. Los riesgos relacionados con la toma de la sangre son mínimos y pueden ser, malestar al extraer la muestra, formación de un pequeño hematoma o equimosis en el sitio de punción y raramente infección en el sitio de punción o desmayo.
6. Esta muestra de sangre será utilizada para medir la producción de IFN γ en respuesta a los antígenos ESAT-6, CFP 10 y PHA, mediante la prueba QuantiFERON-TB Gold Plus (método en tubo). En los casos que sobre muestra de sangre se almacenara para utilizarla para pruebas diagnósticas futuras en sangre según autorización en el anexo del consentimiento informado.
7. Punción Venosa con equipo pericraneal y jeringa:
 - a. Seleccionar el tubo de la prueba QuantiFERON-TB Gold Plus adecuado para recoger la muestra (un tubo de medición de nulos, un tubo para CFP 10, un tubo para ESAT-6, un tubo para mitógeno), y un tubo tapa roja (sin anticoagulante), para biomarcadores.

- b. Rotular con el código del niño.
 - c. Revisar cuidadosamente todo el equipo requerido para el proceso; bata antilíquidos manga larga y con puño recogido, gafas protectoras tipo máscara, equipo pericraneal, jeringa de 7 ml, tubos, gradilla, torniquete, algodón seco, algodón impregnado de alcohol, curas redondas, guardián para descartar las agujas, guantes desechables y alcohol glicerinado.
 - d. Indicar al niño y su acompañante el procedimiento con el fin de tranquilizarlo y facilitar la venopunción. Cerciorarse que se encuentra en una posición adecuada.
 - e. Seleccionar el sitio a puncionar, preferiblemente la región antecubital.
 - f. Con el dedo índice palpar y elegir la vena.
 - g. Limpiar con un algodón impregnado de alcohol el sitio elegido, con un movimiento que va del centro a la periferia.
 - h. Insertar el equipo pericraneal en la jeringa.
 - i. Colocar el torniquete cuatro centímetros por encima del lugar de la punción.
 - j. Sostener el brazo del niño por debajo del lugar donde se va a puncionar.
 - k. Insertar la aguja en el sitio de punción con un ángulo de 45° y con el bisel de la aguja hacia arriba.
 - l. Si al puncionar la vena encuentra dificultad en canalizarla, no traumatice el tejido pues podría provocar la formación de hematomas; preferiblemente, retirar la aguja y repetir el procedimiento en otro sitio.
 - m. Una vez la aguja entre en contacto con la vena, halar suavemente el émbolo de la jeringa hasta completar 7 ml. Tener cuidado de no mover la aguja. Evitar la formación de burbujas y la hemólisis (no sujetar muy fuerte el torniquete).
 - n. Liberar el torniquete y retirar todo el conjunto (equipo pericraneal y jeringa).
 - o. Presionar con algodón seco el sitio de punción (no utilice algodón impregnado de alcohol). Se recomienda estirar el brazo por unos dos a tres minutos, en lo posible tratar que el niño no doble el brazo.
 - p. Poner una cura redonda sobre el sitio de venopunción.
 - q. Inserte la aguja en cada uno de los tubos mientras están puestos en la gradilla, suavemente presione el émbolo de la jeringa hasta llegar a la marca negra en el tubo (aproximadamente 1 ml de sangre en los de quantiferon), retire la aguja, sacuda el tubo 10 veces en forma vertical (se pueden formar unas pocas burbujas, pero no deben ser muchas). Repita el procedimiento con los cuatro tubos de quantiferon. Los 3 ml restantes se depositan de la misma forma en el tubo tapa roja.
 - r. Descartar la aguja en los guardianes de seguridad.
 - s. Al finalizar el procedimiento retirar los guantes y frotar las manos con alcohol glicerinado.
8. Entregar los tubos con las muestras de sangre en el Grupo de Bacteriología y Micobacterias de la Corporación para Investigaciones Biológicas CIB, a la persona designada para ello.
 9. La muestra de sangre para la prueba QuantiFERON®-TB Gold Plus podrá ser tomada de lunes a jueves de 8 a 12.
 10. En los niños que requieran tratamiento para TB activa se tomará una muestra de sangre al terminar el tratamiento solo para determinación de biomarcadores: con el mismo procedimiento 3 ml en tubo tapa roja.

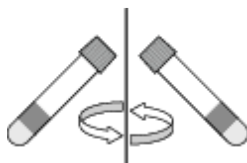
11. **Sobre la prueba de biomarcadores:** La muestra del tubo tapa roja (sin anticoagulante) para determinación de biomarcadores se procesará inicialmente en el laboratorio de Micobacterias de la CIB, así:
- Centrifugar.
 - Tomar cuidadosamente el suero (2 ml).
 - Mezclar con 2 ml de NAP o RNA latter (esto debemos ensayarlo).
 - Almacenar a -20°C.
 - Enviar en refrigeración a CorpoGen en Bogotá.
 - Estas muestras serán procesadas en según los protocolos de laboratorio definidos por CorpoGen.
12. **Sobre la prueba QuantiFERON®-TB Gold Plus:** es un ensayo que mide la reacción inmunitaria celular (RIC) ante antígenos peptídicos que simulan ser proteínas micobacterianas. Estas proteínas - ESAT-6, CFP-10 – no aparecen en ninguna de las cepas de BCG ni en la mayoría de las micobacterias de la tuberculosis, con excepción de *M. kansasii*, *M. szulgai* y *M. marinum*. Los individuos infectados con bacterias del complejo *M. tuberculosis* normalmente tienen linfocitos en la sangre que reconocen a éstos y a otros antígenos micobacterianos. Este proceso de reconocimiento consiste en generar y secretar citoquina, es decir, IFN γ . Este ensayo se basa en la detección y posterior cuantificación de dicho IFN γ .
13. Resumen del procedimiento
- ESTADIO 1: INCUBACIÓN DE LA SANGRE
 - Recoger la sangre del paciente en los tubos y mezclar el contenido agitando con energía durante 5 segundos (ó 10 veces) para estar seguro de que toda la superficie interna del tubo esté cubierta de sangre.



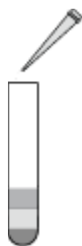
- Colocar los tubos de pie a 37°C entre 16 y 24 horas.



- Después de estar en la incubadora, centrifugarlos de 5 a 15 minutos a 2000 - 3000g RCF (g) para separar el plasma de los glóbulos rojos.



- Después del centrifugado, recoger las muestras de plasma de cada tubo para cuantificar el IFN γ .



b) ESTADIO 2: ELISA PARA CUANTIFICAR IFN- γ

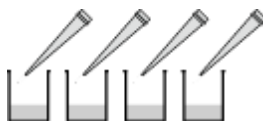
- i) Equilibrar los componentes de ELISA, excepto el concentrado 100X del conjugado, a temperatura ambiente al menos durante 60 minutos.



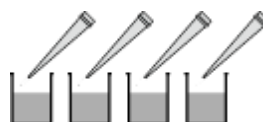
- ii) Disolver el equipo estándar en 8,0 UI/ml con agua destilada o deionizada. Preparar cuatro (4) diluciones de estándares.
- iii) Disolver el concentrado 110X de conjugado liofilizado con agua deionizada o destilada.



- iv) Preparar conjugado con diluyente verde y añadir 50 μ L a cada uno de los pocillos.



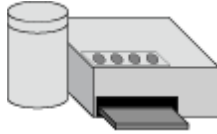
- v) Añadir 50 μ l de las muestras de plasma y 50 μ l de estándar a los pocillos correspondientes. Mezclar utilizando el agitador.



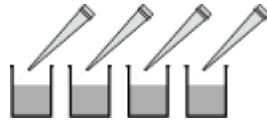
- vi) Incubar durante 120 minutos a temperatura ambiente.



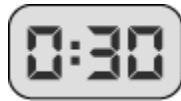
- vii) Lavar los pocillos al menos 6 veces con 400 μ l/pocillo de tampón de lavado.



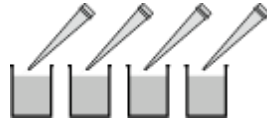
viii) Añadir a los pocillos 100 μ l de solución enzimática de sustrato. Mezclar utilizando el agitador.



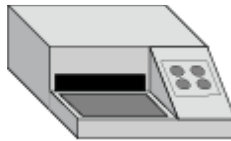
viii) Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.



ix) Añadir 50 μ l de solución de paro a todos los pocillos. Mezclar utilizando el agitador.



x) Leer los resultados a 450nm con un filtro de referencia de entre 620 y 650nm.



xi) Analizar los resultados.



14. Cálculos e interpretación de los resultados del ensayo:

Se utilizará el software específico para QuantiFERON®-TB Gold IT que analiza datos brutos y calcula resultados.

El programa evalúa la calidad del análisis, genera una curva estándar y proporciona un resultado para cada sujeto, calculado con el método de interpretación explicado a continuación.

a) Control de calidad del ensayo:

La exactitud de los resultados del análisis dependerá de la precisión de la curva estándar que se genere. Por consiguiente, los resultados extraídos de los estándares deberán revisarse antes de interpretar los resultados correspondientes a las muestras analizadas.

Para que el ELISA se considere válido:

- El valor DO medio para el estándar 1 debe ser $\geq 0,600$.

- El %CV de los valores OD de las réplicas del estándar 1 y del estándar 2 deben ser $\leq 15\%$.
- Los valores OD de las réplicas del estándar 3 y del estándar 4 no deben alejarse en más de 0,040 unidades DO de su media.
- El coeficiente de correlación (r) calculado a partir de los valores medios de absorción de los estándares debe ser ≥ 0.98 .

El software de análisis del QuantiFERON®-TB TB Gold Plus calcula y muestra los valores de estos parámetros de calidad.

Si no se cumplen estos requisitos, el análisis no será válido y habrá que repetirlo.

- El valor DO medio para el estándar cero (diluyente verde) debe ser $\leq 0,150$. Si el valor DO medio es $> 0,150$ habrá que revisar el procedimiento de lavado de las placas.

- b) Interpretación de los resultados: los resultados del ensayo QuantiFERON®-TB Gold Plus se interpretarán según los siguientes criterios:

NOTA: Para diagnosticar o descartar una tuberculosis, o para evaluar la probabilidad de una tuberculosis latente es necesario recabar una serie de datos epidemiológicos, históricos, médicos y diagnósticos que habrá que tener en cuenta a la hora de interpretar los resultados del análisis QuantiFERON®-TB Gold Plus.

Es imposible establecer correlación alguna entre el volumen de IFN γ medido y el grado de infección, de respuesta inmune o la probabilidad de que la enfermedad entre en su fase activa.

Tabla para interpretación de resultados QuantiFERON®-TB Gold Plus

Nil (IU/ml)	TB1 minus Nil (IU/ml)	TB2 minus Nil (IU/ml)	Mitogen minus Nil (IU/ml)*	QFT-Plus Result	Report/Interpretation
≤8.0	≥0.35 and ≥ 25% of Nil value	Any	Any	Positive†	M. tuberculosis infection likely
	Any	≥0.35 and ≥ 25% of Nil value			
	<0.35 or ≥0.35 and <25% of Nil value	<0.35 or ≥0.35 and <25% of Nil value	≥0.5	Negative	M. tuberculosis infection NOT likely
	<0.35 or ≥0.35 and <25% of Nil value	<0.35 or ≥0.35 and <25% of Nil value	<0.5	Indeterminate‡	Likelihood of M. tuberculosis infection cannot be determined
>8.0§	Any				

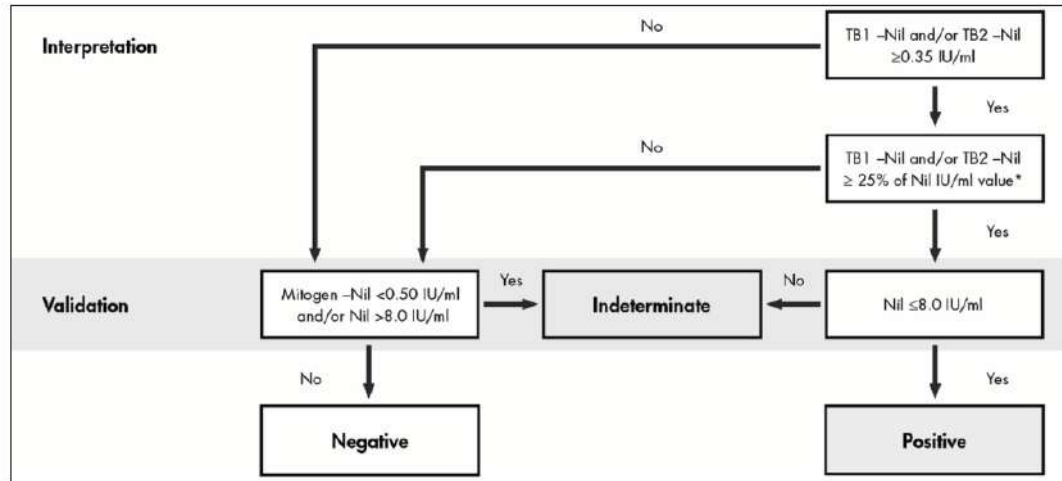
* Responses to the Mitogen positive control (and occasionally TB Antigens) can be outside the range of the microplate reader. This has no impact on test results. Values > 10 IU/ml are reported by the QFT-Plus software as > 10 IU/ml.

[†] Where *M. tuberculosis* infection is not suspected, initially positive results can be confirmed by retesting the original plasma samples in duplicate in the QFT-Plus ELISA. If repeat testing of one or both replicates is positive, the individual should be considered test positive.

[‡] Refer to the "Troubleshooting" section for possible causes.

[§] In clinical studies, less than 0.25% of subjects had IFN- γ levels of > 8.0 IU/ml for the Nil value.

Diagrama de flujo: interpretación de resultados QuantiFERON®-TB Gold Plus



Tomado de:
 Quiagen. QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus). ELISA Package Insert.
 The whole blood IFN- γ test measuring responses to ESAT-6 and CFP-10 peptide
 antigens.

6. Realización de prueba de tuberculina.

Código	Procedimiento para la realización de prueba de tuberculina.	

Objetivo: Estandarizar el procedimiento para la realización de prueba de tuberculina en los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar.

Alcance: Este procedimiento se utilizará para la realización de prueba de tuberculina a los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar al inicio del estudio.

Responsables: Estudiante de Doctorado, Médico, Residente de Infectología, Auxiliar de Enfermería.

Procedimiento:

1. En caso de que la prueba no haya sido realizada ya por la institución de salud a la que consulta el niño, en la evaluación inicial se le realizará la prueba de la tuberculina, por personal entrenado para ello.
2. La prueba de la tuberculina consiste en la aplicación intradérmica de 5 UI del Derivado de Proteína Purificado (PPD) en la cara anterior del antebrazo izquierdo, a 5-10 cm. del pliegue del codo, después de limpiar la piel con algodón y agua estéril. La lectura se efectuará después de 48 a 72 horas por personal entrenado, utilizando la "técnica estilográfica" midiendo con una regla en milímetros el tamaño de la induración que se produzca como respuesta a la aplicación.
3. La solución de PPD debe ser almacenada entre 2 y 8° C y separada de otros biológicos.
4. Para evitar fluctuaciones de temperatura no debe ser almacenada en la puerta del refrigerador.
5. En lo posible almacenar y transportar la solución PPD en la oscuridad; evitar la exposición a la luz.
6. Se debe marcar el vial con la fecha en que se abrió por primera vez, y descartar la parte que no haya sido utilizada 30 días después.
7. La jeringa se debe llenar inmediatamente antes de la aplicación.
8. Se deben evitar las áreas de la piel con venas, erupciones, o exceso de vello, cicatrices o pliegues.
9. Limpiar el área con algodón con agua estéril e inyectar la solución de PPD debajo la superficie de la piel, se debe formar una pápula de 6-10 mm (un área elevada pálida con bordes definidos).
10. Medir la pápula. Si no se forma pápula o si es menor de 6 mm, la prueba se debe repetir inmediatamente en un sitio a por lo menos 5 cm de distancia del sitio original o en el brazo opuesto.
11. Si se produce hemorragia leve, limpiar suavemente la zona con algodón en el sitio de la inyección.

12. No cubrir el área de aplicación con vendaje.
13. Anotar la fecha, hora y sitio de la inyección intradérmica.
14. Registrar la marca de la solución de PPD, el número de lote, el fabricante y la fecha de vencimiento.
15. Indicar a niños y padres no rayar o cubrir el sitio de la aplicación.
16. Informar a los niños y sus padres la importancia de volver para la lectura de la prueba en 48 a 72 horas (2-3 días).
17. Dar la cita por escrito para volver a la lectura.
18. Para la medición de la reacción a la tuberculina: ubicar el sitio de aplicación de la prueba y verificarlo con el niño y su responsable.
19. Inspeccionar y palpar el área con la yema de los dedos para identificar el área de induración, no de eritema.
20. Medir el área de induración perpendicular al eje largo del brazo. Utilizar un bolígrafo para marcar los bordes de la induración. Usar una regla para medir la distancia entre los dos bordes.
21. Registrar la fecha de aplicación de la prueba y de medición de la induración así como el nombre de la persona que lo realizó. Anotar los resultados en milímetros de induración (00 mm si no hay induración) en lugar de positivo o negativo. (Formato de recolección de información 8 prueba de tuberculina).

Adaptado de:

- New Jersey Medical School Global Tuberculosis Institute. Management of Latent Tuberculosis Infection in Children and Adolescents: A Guide for the Primary Care Provider. 2009.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC), New Jersey Medical School Global Tuberculosis Institute. Latent tuberculosis infection: a guide for primary health care providers. Atlanta, Georgia; 2013.

7. Lectura estandarizada de radiografía de tórax.

Código	Procedimiento para la lectura estandarizada de radiografía de tórax.	

Objetivo: Estandarizar el procedimiento para la lectura de la radiografía de tórax de los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar.

Alcance: Este procedimiento se utilizará para la realización de la lectura estandarizada de las radiografías de tórax de los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar al inicio del estudio.

Responsables: Estudiante de Doctorado, Médico, Pediatra Infectólogo, Radiólogo.

Procedimiento:

1. El médico ordenará la radiografía de tórax luego de la evaluación clínica inicial.
2. La radiografía de tórax será realizada en el Hospital Pablo Tobón Uribe.
3. La radiografía de tórax será leída por dos expertos de manera independiente y cegada con respecto a la información clínica, excepto por la edad.
4. Los expertos serán radiólogo y radiólogo de tórax, en caso de desacuerdo en la lectura de la radiografía, un tercer experto será consultado para llegar a un consenso final.
5. Se utilizará el siguiente formato gráfico para reporte de radiografías. Se clasifica como “consistente con tuberculosis” si hay respuesta positiva para alguna de las características radiográficas en la misma localización para al menos dos revisores expertos.

Nombre: _____

Identificación: _____

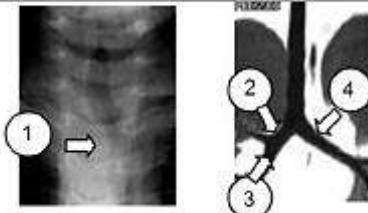
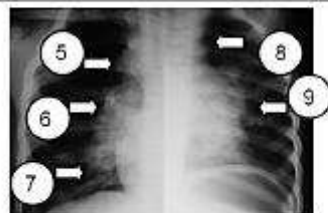
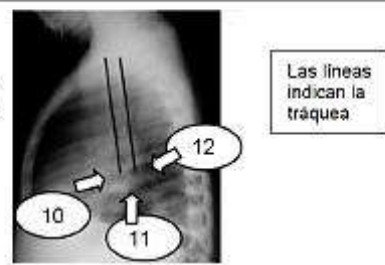
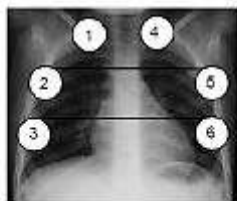
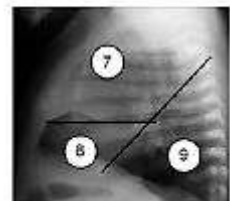
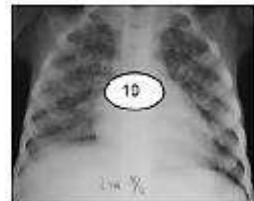
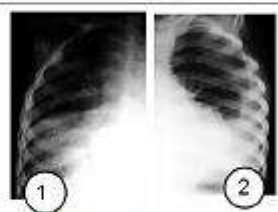
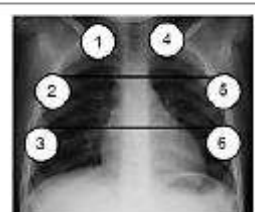
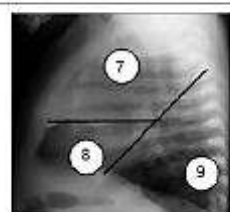
Fecha Toma Rx Tórax: _____ (dd-mm-aaaa)

Fecha Lectura: _____ (dd-mm-aaaa)

Instrucciones:

1. Indique algún número de la localización de la anomalía, utilizando una "X" en el círculo del número apropiado.

2. Marque solo una de las opciones "No", "Si", "No Visible" para cada categoría de anomalía identificada (numeradas 1-8).

<p>1. Compresión de la vía aérea y/o desplazamiento de la tráquea</p> <p>No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No visible <input type="checkbox"/></p>		<p>2. Densidad del tejido blando sugestiva de linfadenopatía</p> <p>No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No visible <input type="checkbox"/></p>	
 <p>1 = compresión o desplazamiento solo a la izquierda 2-4 = compresión</p>		 	
<p>3. Opacificación del espacio aéreo</p> <p>No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No visible <input type="checkbox"/></p>		<p>4. Imagen nodular = Miliar o mayor diseminado y bilateral</p> <p>No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No visible <input type="checkbox"/></p>	
 			
<p>5. Derrame pleural</p> <p>No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No visible <input type="checkbox"/></p>		<p>6. Cavidades 7. Parénquima calcificado (Foco de Ghon) 8. Espondilitis vertebral</p> <p>No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No visible <input type="checkbox"/></p>	
		 	
<p>Calidad Técnica</p> <p>Proyección AP <input type="checkbox"/> Aceptable <input type="checkbox"/> Pobre pero legible <input type="checkbox"/> No aceptable, no legible</p> <p>Proyección Lateral <input type="checkbox"/> Aceptable <input type="checkbox"/> Pobre pero legible <input type="checkbox"/> No aceptable, no legible</p>			

Observaciones: _____

Lectura realizada por: _____

6. La radiografía será clasificada como:
 - a. Normal (sin anormalidades sugestivas de tuberculosis actual o previa).
 - b. Consistente con tuberculosis (si hay respuesta positiva para alguna de las características radiológicas en la misma localización por los dos expertos).
 - c. Complejo de Ghon.

Adaptado de:

- Graham SM, Ahmed T, Amanullah F, Browning R, Cardenas V, Casenghi M, et al. Evaluation of tuberculosis diagnostics in children: 1. Proposed clinical case definitions for classification of intrathoracic tuberculosis disease. Consensus from an expert panel. *J Infect Dis.* 2012;205(suppl 2):S199–208.
- Andronikou S, McHugh K, Abdurahman N, Khoury B, Mngomezulu V, Brant WE, et al. Paediatric radiology seen from Africa. Part I: providing diagnostic imaging to a young population. *Pediatr Radiol.* 2011;41(7):811–25.
- Verhagen LM, Maes M, Villalba JA, Rodriguez LP, España MF, Hermans PW, et al. Agreement between QuantiFERON (R)-TB Gold In-Tube and the tuberculin skin test and predictors of positive test results in Warao Amerindian pediatric tuberculosis contacts. *BMC Infect Dis.* 2014;14(1):383.
- Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS, Starke JR, Hesseling AC, Donald PR, et al. A proposed radiological classification of childhood intra-thoracic tuberculosis. *Pediatr Radiol.* 2004;34(11):886-94.

8. Seguimiento presencial de los niños captados.

Código	Procedimiento para el seguimiento presencial de los niños captados para el estudio.	

Objetivo: Estandarizar el procedimiento para el seguimiento presencial a los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar, que hayan sido captados.

Alcance: Este procedimiento se utilizará para realizar el seguimiento presencial a los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar, que hayan sido captados en el estudio.

Responsables: Estudiante de Doctorado, Médico, Infectóloga Pediatra, Enfermera, Auxiliar de Enfermería

Procedimiento:

1. A los niños que requieran tratamiento para tuberculosis latente y que acepten recibir la estrategia de cuidado integral incluyendo rifampicina (10mg/kg de peso/día) (83 niños), se les realizará seguimiento mensual mientras reciban medicamento (cuatro meses). Nuevamente se le hará una evaluación al año.
2. Los niños que asistan a la estrategia de cuidado integral serán reportados en todos los formatos del programa de control de tuberculosis.
3. Los niños cuyos responsables no acepten recibir la estrategia de cuidado integral luego de la evaluación inicial, se remitirán a su institución de salud como se indicó previamente, y se citarán a nueva evaluación al año.
4. Citar a los niños arriba mencionados, contactando a su padre o representante legal.
5. Indicar el día, hora y lugar de evaluación.
6. Hacer la evaluación clínica del niño (formato de recolección de información 6 evaluación clínica de seguimiento). Realizar clasificación (triage) del sintomático respiratorio como se indicó previamente en el procedimiento de evaluación clínica inicial. El médico debe realizar anamnesis completa, que incluya revisión por sistemas, para detectar síntomas respiratorios o algún otro sugestivo de tuberculosis activa o la presencia de reacciones adversas al medicamento; realizar examen físico completo (que incluya medición de talla y peso).
7. Diligenciar completamente la lista de chequeo sobre signos y síntomas de tuberculosis activa, y el formato de seguimiento del tratamiento (Formato de recolección de información 10 cuestionario de signos y síntomas TB activa y el formato 12 de seguimiento del tratamiento).
8. En caso de sospecha clínica de tuberculosis activa ordenar radiografía de tórax y toma de muestra de esputo inducido, aspirado de jugo gástrico, y materia fecal para baciloscopia, cultivo en medio sólido y líquido, y GeneXpert MTB/RIF Ultra; ordenar muestra de orina y sangre para determinación de biomarcadores.

9. Según hallazgos definir conducta a seguir, continuar seguimiento clínico o remitir a institución de salud para estudios complementarios y/o inicio de tratamiento para tuberculosis activa.
10. Si el niño se encuentra en tratamiento bajo la estrategia de cuidado integral con rifampicina (10mg/kg de peso/día), entregar el medicamento durante la consulta, el cual debió ser solicitado previamente al servicio farmacéutico, en el cual se conservan todas las normas necesarias para su consecución, almacenamiento y distribución.
11. Realizar también la entrega del incentivo de transporte y paquete alimentario según se haya definido para ese momento.
12. En caso de detectar algún efecto adverso relacionado con la rifampicina, además de tomar las medidas clínicas pertinentes respecto al evento adverso, éste debe ser reportado inmediatamente al Comité de Ética en Investigación de la CIB.

9. Seguimiento telefónico de los niños captados.

Código	Procedimiento para el seguimiento telefónico de los niños captados para el estudio.	

Objetivo: Estandarizar el procedimiento para el seguimiento telefónico a los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar, que hayan sido captados.

Alcance: Este procedimiento se utilizará para realizar el seguimiento telefónico a los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar, que hayan sido captados en el estudio mientras se encuentran en tratamiento para infección latente por tuberculosis.

Responsables: Estudiante de Doctorado, Médico, Auxiliar Enfermería.

Procedimiento:

1. El seguimiento telefónico se hará a las dos semanas de iniciado el tratamiento a los niños de la estrategia de cuidado integral y a los niños remitidos a tratamiento en su institución de salud. También se realizará a los 8 meses a los niños de la estrategia de cuidado integral; y a los 6 meses a los niños remitidos a tratamiento en su institución de salud para TB activa o latente.
2. Realizar llamada telefónica para dialogar con la persona encargada del niño, padre o representante legal.
3. Consignar toda la información en el formato destinado para ello (formato de recolección de información 5 seguimiento telefónico), dirigir el interrogatorio con especial énfasis en las dosis de tratamiento recibidas por el niño y los síntomas que pudieran sugerir una reacción adversa o presencia de tuberculosis activa.
4. En caso de encontrar síntomas que pudieran sugerir una reacción adversa o presencia de tuberculosis activa informar inmediatamente al Estudiante de Doctorado, Médico y/o Pediatra Infectólogo para definir conducta a seguir.

10. Toma de muestra de esputo inducido.

Código	Procedimiento para la toma de muestra de esputo inducido.	

Objetivo: Estandarizar el procedimiento para la toma de muestra de esputo inducido en los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar.

Alcance: Este procedimiento se utilizará para la toma de muestra de esputo inducido en los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar, que tenga signos y síntomas compatibles con TB activa al ingreso al estudio, o durante el seguimiento.

Responsables: Estudiante de Doctorado, Médico, Auxiliar de Enfermería.

Procedimiento:

1. Se tomarán dos muestras de esputo inducido. Esta técnica para obtener esputo consiste en fluidificar las secreciones pulmonares con la ayuda de un equipo llamado nebulizador. Se procede a realizar una nebulización con solución salina concentrada (hipertónica) para facilitar la expectoración y la salida del esputo. Este procedimiento será realizado por personal previamente entrenado y es poco probable que se presenten complicaciones durante el procedimiento.
2. El esputo inducido puede producir broncoespasmo (por procedimiento de nebulización con solución hipertónica), para minimizar este riesgo se excluirán niños con antecedentes de asma severa. Adicionalmente a todos los niños se les administrará un broncodilatador para minimizar este riesgo.
3. Además, como efecto adverso puede ocasionar tos persistente, sangrado nasal, náuseas, vómito y ansiedad.
4. Los procedimientos se realizarán en el Hospital Infantil Consejo de Medellín siguiendo los protocolos estipulados por dicha institución.
5. Las muestras de esputo serán utilizadas para la realización de baciloscopia, cultivo en dos tipos de medios y prueba GeneXpert MTB/RIF Ultra, y determinación de biomarcadores, los cuales también serán realizados en la CIB por personal calificado para dichos procedimientos. Para la determinación de biomarcadores una parte de la muestra será enviada a CorpoGen en Bogotá.

11. Realización de aspirado de jugo gástrico.

Código	Procedimiento para la realización de aspirado de jugo gástrico.	

Objetivo: Estandarizar el procedimiento de aspirado de jugo gástrico en los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar.

Alcance: Este procedimiento se utilizará para el aspirado de jugo gástrico en los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar, que tengan signos y síntomas compatibles con TB activa, al ingreso al estudio o durante el seguimiento.

Responsables: Estudiante de Doctorado, Médico, Auxiliar de Enfermería, Pediatra Infectólogo

Procedimiento:

1. La noche anterior a la recolección de la muestra el personal entrenado en servicio de hospitalización, colocará la sonda nasogástrica.
2. El niño debe permanecer en ayuno por lo menos 8 horas.
3. El día de la recolección de la muestra, al día siguiente, en la mañana, entre 6 y 7 am, se inmoviliza al niño sin despertarlo, y se realiza aspirado gástrico de al menos 10 ml, que se deben depositar en un recipiente tapa rosca estéril al cual se le agrega previamente 0,1 gramo de bicarbonato.
4. Posteriormente se verifica el pH y se ajusta a pH neutro de ser necesario, antes de enviar al laboratorio en condiciones de refrigeración (4°C).
5. La muestra será tomada en el Hospital Infantil Consejo de Medellín, se tomarán dos muestras por niño, la auxiliar de enfermería y/o el médico del proyecto, darán las instrucciones al responsable del niño para llegar a la institución, y el procedimiento de ingreso, allí permanecerá dos noches.
6. Las muestras serán recogidas por el mensajero de la CIB y entregadas en el laboratorio de la CIB.
7. Adicionalmente de las pruebas de baciloscopia, cultivo, y Xpert, la muestra será procesada para almacenamiento y envío a CorpoGen en Bogotá, así:
 - a. Realizar el procedimiento estándar que se tiene para el cultivo microbiológico (decontaminación y NaLC)
 - b. Guardar una alícuota (5 -10 ml) de la muestra neutralizada a 4°C
 - c. Enviar a CorpoGen en refrigeración
 - d. En CorpoGen la muestra será procesada para biomarcadores según protocolo definido por el laboratorio de CorpoGen.

Adaptado de: World Health Organization. Guidance for National Tuberculosis Programmes on the management of tuberculosis in children. Geneva; 2006.

12. Recolección de muestra de materia fecal.

Código	Procedimiento para la recolección de muestra de materia fecal.	

Objetivo: Estandarizar el procedimiento para la recolección de muestra de materia fecal en los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar.

Alcance: Este procedimiento se utilizará para la recolección de muestra de materia fecal en los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar, que tengan signos y síntomas compatibles con TB activa al ingreso al estudio o durante el seguimiento.

Responsables: Estudiante de Doctorado, Médico, Auxiliar de Enfermería, GESIS.

Procedimiento:

1. Se recolectará una muestra de materia fecal a los niños menores de 5 años contactos de pacientes con tuberculosis pulmonar que en la evaluación clínica inicial o de seguimiento cumplan con criterios de sospecha de tuberculosis activa.
2. La auxiliar de enfermería entregará un frasco (tamaño de muestra de orina) y un bajalenguas al responsable del niño, para la recolección de la muestra una vez se ha identificado que se requiere. Tanto el frasco como su tapa deben entregarse debidamente marcados con el nombre e identificación del niño y con una marca hasta donde lo deberán llenar (2/3 superiores).
3. Al entregar el frasco la auxiliar de enfermería le explicará al responsable del niño cómo se debe recolectar la muestra de materia fecal y le entregará las instrucciones escritas, de la siguiente manera:
 - a. En el caso de niños que controlan esfínteres (van al sanitario solos): La persona que le recolectará la muestra al niño debe colocar un plástico limpio en el sanitario o bacinilla para hacer en él su deposición.
 - b. En el caso de niños que **no** controlan esfínteres (usan pañal): La persona que le recolectará la muestra al niño debe recolectar la muestra de materia fecal del pañal una vez el niño haga la deposición, teniendo precaución de no haber usado cremas o talcos en el niño.
 - c. Con el bajalenguas (palita de madera) que le entregaron debe recoger la cantidad necesaria de materia fecal que permita llenar el frasco que le entregaron (ya marcado con el nombre del niño) hasta la marca de llenado que tiene el frasco.
 - d. Agregar la muestra al frasco.
 - e. Cerrar bien el frasco, y meterlo en una bolsa plástica limpia.
 - f. Botar el resto de la muestra de materia fecal en el sanitario y la bolsa en una papelera.

- g. Importante tener en cuenta procurar no mezclar la muestra de materia fecal con orina.
 - h. La muestra se debe recolectar máximo tres horas antes de entregarla, en caso tal de que no le sea posible, debe guardar el frasco en un lugar de la nevera hasta que sea entregada.
 - i. La muestra la debe entregar en la CIB al personal del laboratorio, se debe ingresar en la recepción, y será recibida de lunes a viernes de 8 a 12 m.
- 4. La muestra será recibida en el cuarto de recepción de muestras del primer piso de la CIB por parte de personal del laboratorio, luego de haber sido registrada en la recepción, se debe verificar que esté debidamente marcada.
 - 5. Esta muestra será procesada para Xpert MTB/RIF Ultra, según procedimiento estandarizado en el laboratorio.

13.Recolección y almacenamiento de muestra de orina.

Código	Procedimiento para la recolección y almacenamiento de muestra de orina.	

Objetivo: Estandarizar el procedimiento para la recolección de muestra de orina en los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar.

Alcance: Este procedimiento se utilizará para la recolección de muestra de orina en los niños menores de cinco años, convivientes de pacientes con tuberculosis pulmonar.

Responsables: Estudiante de Doctorado, Médico, Auxiliar de Enfermería, GESIS.

Procedimiento:

1. Se recolectará una muestra de orina a los niños menores de 5 años contactos de pacientes con tuberculosis pulmonar en la evaluación clínica inicial, y también durante el seguimiento si cumplen con criterios de sospecha de tuberculosis activa.
2. La auxiliar de enfermería entregará un frasco de muestra de orina al responsable del niño, para la recolección de la muestra una vez se ha identificado que se requiere. Tanto el frasco como su tapa deben entregarse debidamente marcados con el nombre e identificación del niño y con una marca hasta donde lo deberán llenar (2/3 superiores). En el caso de niños que no controlan esfínteres, entregará también una bolsa con adhesivo para recolección de muestra de orina (y una de repuesto en caso que la primera bolsa se dañe).
3. Al entregar el frasco la auxiliar de enfermería le explicará al responsable del niño cómo se debe recolectar la muestra de orina y le entregará las instrucciones escritas, de la siguiente manera:
 - a. Lavar muy bien los genitales del niño, preferiblemente con abundante agua, si aplica jabón debe estar seguro de que lo enjuagó bien, y secar con una toalla de tela (no papel higiénico para que no queden restos).
 - b. Para niños que controlan esfínteres (van al sanitario solos): de ser posible, recolecte la muestra cuando la orina haya estado en la vejiga del niño entre 2 a 3 horas.
 - i. Para niñas: con la niña sentada en el sanitario o en la bacinilla recoja la muestra en el frasco que se le entregó y cierre bien el frasco.
 - ii. Para niños (sexo masculino): cuando comience a orinar recoja la muestra en el frasco que se le entregó y cierre bien el frasco.
 - c. Para niños que **no** controlan esfínteres (usan pañal): La bolsa de plástico con una cinta adhesiva en un extremo que le entregaron en la CIB, está hecha para que encaje sobre la zona genital del niño. Abra esta bolsa y colóquela sobre los genitales del niño así:

- i. Para las niñas: coloque la bolsa sobre los dos pliegues de piel a cada lado de la vagina (labios mayores).
 - ii. Para los niños (sexo masculino): coloque todo el pene dentro de la bolsa y fije el adhesivo a la piel.
 - iii. Colóquele un pañal al bebé (sobre la bolsa).
 - iv. Revise al bebé frecuentemente y retire la bolsa después de que el niño haya orinado.
 - v. Vacíe la orina de la bolsa en el frasco entregado por la CIB, y llénelo de ser posible máximo hasta la marca de llenado que tiene el frasco y cierre bien el frasco.
 - d. Cerrar bien el frasco, y meterlo en una bolsa plástica limpia.
 - e. Debe guardar el frasco en un lugar de la nevera hasta que sea entregada.
 - f. La muestra la debe entregar en la CIB al personal del laboratorio, se debe ingresar en la recepción, y será recibida de lunes a viernes de 8 a 12 m.
4. La muestra será recibida en el cuarto de recepción de muestras del primer piso de la CIB por parte de personal del laboratorio, luego de haber sido registrada en la recepción, se debe verificar que esté debidamente marcada.
5. Esta muestra será procesada en el laboratorio de micobacterias así:
 - a. Tomar 2 ml
 - b. Mezclar con 2 ml de NAP o RNA latter
 - c. Almacenar a -20°C
 - d. Enviar a CorpoGen en Bogotá en refrigeración, para estudio de Biomarcadores, según protocolo definido por el laboratorio de CorpoGen.