

Eliminación de la n-acetilisoniacida en orina y utilidad de la prueba de Eidus-Hamilton modificado tras la toma de dosis altas de Isoniacida (900 mg)

Eduardo Jiménez¹
 Antonia Montalt²
 Andrés Jiménez¹
 Ramón Martínez²
 Máximo Pérez²
 Amparo Damià²
 Vicent García²
 Horacio Jiménez¹

¹Laboratorio
 Dr. Horacio Jiménez
 Calisalvo
 Valencia

²Centro de Prevención
 y Control
 de la Tuberculosis
 Conselleria de Sanitat
 (C.P.C)
 Valencia

Correspondencia:
 Antonia Montalt
 Centro de Prevención y
 Control de la Tuberculosis
 Conselleria de Sanitat
 (C.P.C)
 Calle Sogueros, 24 bajos
 46003 Valencia
 E-mail:
 cast@ayto-valencia.es

Resumen

La primera medida de control de la tuberculosis consiste en el tratamiento adecuado y completo de los casos. Frente a la sospecha de mal cumplimiento está siempre indicado el Tratamiento Directamente Observado (TDO). La prueba de Eidus-Hamilton (prueba de EH) es de gran ayuda para monitorizar el cumplimiento del tratamiento ya que permite detectar la frecuencia de Isoniacida (H) en orina. Se ha realizado una modificación de la prueba de EH incorporando la espectrofotometría en 546 nm que permite medir la absorbancia (abs) del color rojo-violáceo. Se realizaron tras la ingesta de 900 mgs. de H, las siguientes valoraciones en personas sanas:

1. Valoración: *estabilidad del metabolito n-acetilisoniacida* presente en las orinas recogidas el primer día (3-4 horas) midiendo la absorbancia de la prueba de EH cada 24 horas. En todos los casos el metabolito fue estable a temperatura ambiente en los días estudiados, con lo que se facilitó la recogida diaria de la orina por los enfermos y el traslado al laboratorio varios días después, conservadas a temperatura ambiente. Se evitaron viajes y traslados del enfermo facilitando el TDO.
2. Valoración: *estabilidad de la prueba de EH* realizado una sola vez y midiendo a lo largo del tiempo la absorbancia del complejo rojo-violáceo. El color de la reacción se fue perdiendo con el tiempo por lo que se aconseja como una vez realizado la prueba se realice la medición dentro de las seis horas siguientes.
3. Valoración: *tiempo de eliminación del metabolito*, midiendo la absorbancia de la prueba de EH en orinas recogidas a diferentes horas. Se observó que el tiempo de eliminación, entre 36-45 horas, es superior a lo que indica la literatura pudiendo estar influido con probabilidad por la edad del paciente. Se aconseja la recogida antes de las 36 horas después de la toma de H.

La prueba de EH modificado constituye una alternativa válida a la prueba de EH clásico ya que permite la cuantificación de la absorbancia y supone un escaso coste añadido. Se aconseja la utilización cuando la dosis de H es de 300 mg o cuando se ha efectuado en un plazo superior a las 24 horas o inferior a 36 la recogida de la orina tras la toma de H ya que así se podrían evitar falsos negativos con una alta probabilidad además de favorecer las recogidas de las muestras.

Palabras clave: Prueba de Eidus-Hamilton modificado. Tuberculosis. Isoniacida.

Summary

The first measure of control of tuberculosis consists of the suitable and complete treatment of the cases. If there is a suspicion of bad fulfilment is always appropriate the Directly Observed Treatment (DOT). The Eidus-Hamilton test (EH-test) is a great help for monitoring the fulfilment of the treatment since permits to detect the frequency of isoniazid (H) in urine.

The EH test has been modified by the incorporation of photospectroscopy 546 nm, which permits to measure the absorbance (abs) of the red-violaceous colour. After the ingestion of 900 mgr of H, the following appraisals were achieved:

1. appraisal: Stability of n-acetylated isoniazid metabolite present in urine collected the first day (3 - 4 hours) measuring the absorbance of the EH test each 24 hours. In every case the metabolite was stable at ambient temperature during the days of study, what made easier the collect of urine by the patients and the moving to the laboratory some days after, conserved at ambient temperature. Journeys and moving were avoided providing the DTO.
2. appraisal: Stability of the EH test made once and measuring during the time of the red-violaceous complex. The colour of the reaction gets lost along the time. that 's why is advised to make the measure in the next 6 hours.
3. appraisal: Time of elimination of metabolite, measuring the absorbance of the EH test in urines collected at different times. It was observed that the time of elimination, approximate 36- 45 hours, is higher than the literature indicates, but this could be influenced with probability by the age of the patient. Is advised to make the collect before 36 hours after the dose of H.

The modified EH tests constitutes a valid alternative to the classic EH test in order that permits the quantification of the absorbance and supposes a scarce cost added. Is advised the use when the dose of H is of 300 mgr or when it has been carried out in a higher period than 24 hours or lower than 36 hours of the collect of urine after the dose of H, in this way is possible to avoid false-negative results with a high probability also to favour the collect of the samples.

Key words: Eidus-Hamilton test modified. Tuberculosis. Isoniazid

Introducción

La tuberculosis (TBC)^{1,2} constituye en la actualidad un serio problema de salud pública en los países desarrollados. La persistencia de una notable prevalencia de infección en la población adulta, el solapamiento de las infecciones por VIH y TBC, la mayor incidencia en sectores marginales en la población y la difícil implantación de adecuadas medidas de control han condicionado la existencia de una incidencia aún elevada en nuestro medio³⁻⁶.

La primera medida para el control de la TBC es el diagnóstico precoz y la curación de todos los casos mediante el tratamiento adecuado durante el tiempo preciso. De no ser así, no se consigue cortar la cadena de transmisión epidemiológica en el eslabón más importante. La OMS indica que se debe alcanzar el 90% de curaciones para aspirar a un control deseable⁷.

Su tratamiento dada su duración y necesaria adherencia no está exento de dificultades, precisa por tanto controles frecuentes y un seguimiento exhaustivo. Los frecuentes abandonos^{8,9} sobre todo por sectores mal integrados en el sistema sanitario son causa de frecuentes recidivas, retratamientos y aparición de resistencias lo que redundan en un aumento de la prevalencia de la enfermedad¹⁰⁻¹⁴.

La actividad más idónea para conseguir el cumplimiento del tratamiento en los colectivos de riesgo de nuestro medio es la instauración del Tratamiento Directamente Observado (TDO)¹⁵⁻¹⁹ en los pacientes con perfil de "mal cumplimiento"^{20,21}. Consiste en observar como el enfermo toma la medicación y así comprobar que la ha ingerido. Su eficacia ha hecho que se considere para la OMS el estándar de tratamiento⁷.

Con el fin de mejorar el cumplimiento del TDO y facilitar la adherencia al tratamiento cabe la posibilidad de sustituir la dispensación de dosis diarias por dosis bi-semanales o uni-semanales^{22,23} asociadas a la incentivación del paciente para aumentar su motivación²⁴. En ocasiones no se puede dispensar directamente el tratamiento y éste es facilitado al enfermo para que lo tome fuera del centro de forma autoadministrada. En estos casos para poder tener una razonable certeza del cumplimiento es necesaria la monitorización continua de los fármacos antituberculosos. Con este propósito se viene utilizando la

prueba de Eidus-Hamilton (prueba de E-H)²⁵ ya que permite valorar la eliminación de la n-acetilisoniacida en orina lo que pondría en evidencia la toma previa de Isoniacida con una alta probabilidad. Sin embargo esta prueba tiene como limitaciones importantes el hecho de ser una medida cualitativa mediante la simple visualización de un color y por tanto subjetiva, sobre todo en los casos de que la n-acetilisoniazida se encuentra en pequeña concentración < a 10 gammas, por ello creemos que las medidas espectrofotométricas serían más objetivas y sensibles aumentando la fiabilidad de los resultados.

Nuestro objetivo fue valorar la utilidad de la prueba de E-H en nuestro caso modificado mediante la incorporación de la espectrofotometría para su empleo en la práctica del TDO. Con este fin se realizó la valoración de la presencia del metabolito n-acetilisoniacida en orina, durante siete días, tras una toma de 900 mg de Isoniacida²⁶. Dado que las determinaciones se realizan con muestras de orina, se midió también la presencia y persistencia del metabolito en dichas muestras y la estabilidad de la prueba de E-H durante dos días y medio en las condiciones normales de conservación del laboratorio con el objeto de ver si la muestra continuaba siendo válida.

Material y método

Para la realización de la prueba de Eidus-Hamilton modificado se utilizaron, un espectrofotómetro Hitachi Photometer 4010[®], una centrífuga Centromax Selecta[®], autopipetas de 5 ml/0,5 ml y de 0,5 ml/0,1 ml, P-toluensulfencloramida sódica trihidratada marca Panreac[®] en solución acuosa al 10% y CNK purísimo marca Panreac[®] en solución acuosa al 10%.

Sujetos

Se eligieron al azar 20 sujetos voluntarios sanos entre el personal sanitario y de servicios sociales que trabajan en el Centro de Atención Social a Personas Sin Techo y en el Centre de Suport al C.A.S.T. a los que se descartó la presencia de patología hepática y renal. De ellos 10 eran hombres y 10 eran mujeres con edades comprendidas entre los 20 y 60 años.

Se administraron 900 mg de Isoniacida en ayunas a los voluntarios por ser la dosis habitual en tratamientos bisemanales y para estar seguro que la cantidad de metabolito era significativa en la orina, instándoles a no ingerir ningún alimento, susceptible de poseer colorantes rojos o violáceos, tras las horas siguien-

tes. La valoración propuesta consistió en determinar:

Variables

- La estabilidad del *metabolito n-acetilisoniacida* presente en la orina en el tiempo y a temperatura ambiente.
- La estabilidad de la prueba de *Eidus-Hamilton* en el tiempo y a temperatura ambiente.
- *El tiempo de eliminación* en orina de la Isoniacida metabolizada en el organismo sano y con una diuresis media de 1,5 a 2,0 litros/24 horas así como la posible influencia de la edad en dicha eliminación.

Prueba de Eidus-Hamilton modificado

La prueba de *Eidus-Hamilton* modificado se basó en la cuantificación mediante espectrofotometría. Este método tiene su fundamento en que la luz es en parte absorbida y en parte transmitida cuando pasa a través de una disolución. La medida de la luz absorbida suele estar en función de la concentración de la disolución y se puede utilizar para medirla cuando se la compara con una disolución de esta misma sustancia de concentración conocida.

Para ello primero se realizó un espectro de absorbancia para determinar en el complejo color rojo violeta de la reacción de *Eidus-Hamilton* un máximo de absorbancia (540 nm) que permitiera realizar las medidas. Para la realización de la técnica (2) y (25) se tomó de cada voluntario un 1 ml de orina y se mezcló agitando con 1 ml de solución de CNK al 10% y con 2,2 ml de cloramida al 10%. Se dejó después en reposo durante 15 minutos. Tras lo cual se centrifugó a 4.000 rpm durante 20 minutos con el fin de separar el precipitado blanco, decantándose el líquido sobrenadante sobre el que realizó la medida de absorbancia a 546 nm. Se utilizaron como blanco dos soluciones, una para obtener la línea base mediante 2 ml de la solución de CNK al 10% y 4,4 ml de la solución cloramida al 10%.

La otra solución se realizó con 2 ml de orina de una persona sana, mediante centrifugación y posterior decantado según se indicó con anterioridad. Las medidas de absorbancia se realizaron por espectrofotometría. Los resultados se representaron de forma gráfica. Se obtuvieron las rectas por el método de regresión lineal (Microsoft Excel 2000) y se compararon las medias de las medidas obtenidas mediante la prueba de Student y Anova (SPSS).

Para la realización de *la prueba de E-H* se siguió la secuencia indicada por el propio autor en la bibliografía²⁵: orina-reactivo CNK y reactivo cloramida. Caso de añadir la orina en último lugar, la interacción entre los reactivos impide la reacción no obteniéndose el color rojo-violáceo.

La secuencia del procedimiento realizado fue:

- 1ª valoración: se realizó la prueba de E-H modificado cada 24 horas a partir de la orina recogida el primer día 4 horas después de la toma de Isoniacida conservada a temperatura ambiente. En este caso los blancos se realizaron de nuevo cada día.
- 2ª valoración: se realizaron las determinaciones a partir de la reacción de E-H efectuada el primer día tras conservar el sobrenadante a temperatura ambiente y realizando las medidas cada 24 horas; en este caso el blanco se realizó en la primera medida, conservándose para las siguientes, ya que con el tiempo se oscurecía hasta estabilizarse como se observa a continuación:

- Inicial: 0,000
- 24: 0,163
- 48: 0,164
- 72: 0,165
- 96: 0,126

Absorbancias obtenidas de la mezcla de 1 ml CNK, 2,2 ml Cloramida y 1 ml de orina (prueba en blanco), medidas a diferentes horas.

- 3ª valoración: se utilizaron muestras de orina que aportaron los voluntarios cada 4 horas aproximadamente recogidas en frasco estéril, adaptándose a su frecuencia de diuresis, durante dos días. Para poder realizar la valoración se requirió disponer de al menos 8 muestras de cada sujeto y se comenzó a valorar la presencia del metabolito, cuatro o cinco horas después de la toma cuando la concentración era máxima.

Análisis estadístico

Se compararon las medidas de abs en dos grupos, un primer grupo constituido por 10 personas con edades inferiores a 40 años frente a un segundo grupo con edades superiores a 40 años. Las medidas de abs fueron obtenidas en tres intervalos de tiempo: de 4 a 5 horas, de 19 a 25 horas y de 34 a 36 desde el inicio de la ingesta, tomando el valor de la última medida. Se valoró además la dispersión de datos obtenidos en la eliminación como abs y la edad mediante la correlación lineal y el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson.

Resultados

1ª valoración

En las Tablas 1a (mujeres) y 1b (hombres) vienen representados los datos de las medidas de la absorbancia (abs) y en las Figuras 1a (mujeres) y 1b (hombres) su representación gráfica, que indican la

permanencia del metabolito n-acetilisoniacida durante 6 días en mujeres y 7 días en hombres. En ambos grupos permaneció el metabolito bastante estable con valores muy similares entre hombres y mujeres en los diferentes intervalos de tiempo en los que realizaron las medidas. En el caso 6 (Figura 1a), la medida de la abs en el control final (144 horas) es de 0,734 y caso 7 (Figura 1b), la abs en el control

Horas	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 6	P 7	P 8	P 9	P 10
4		2,109	2,040	1,575				1,608		
10						1,370				
14	1,611									
20										1,522
21									1,598	
22							1,575			
23					1,583					
24		1,539	1,781	1,754				1,751		
48	1,528	1,883	1,816	1,294	1,488	1,349	1,312	1,953	1,399	1,491
72	1,746	1,554	1,604	1,231	1,155	1,135	1,047	1,673	1,275	1,662
96	1,459	1,596	1,720	1,265	1,498	1,114	1,225	1,814	1,594	1,388
120	1,671	1,506	1,757	1,446	1,430	1,046	1,350	1,840	1,706	1,601
144	1,828				1,431	0,734	1,300		1,458	1,740

Tabla 1a. Absorbancias, medidas a 546 nm, de la prueba E-H realizado a diferentes horas de la orina inicial recogida, para el grupo de mujeres

Horas	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 6	P 7	P 8	P 9	P 10
4	1,727	1,812	1,563	1,608			1,927			
8						2,119				
17									1,554	
20					1,487					
24	2,178	1,827	1,825	1,919		1,621	1,455	0,751		0,536
48	1,758	2,236	1,901	1,883	1,443	1,899	1,615	0,648	1,525	0,676
72	1,826	1,823	1,643	1,679	1,625	1,475	1,013	0,558	1,726	0,563
96	1,917	1,795	1,799	1,846	1,325	1,525	1,087	0,603	1,443	0,769
120	1,973	1,876	1,881	1,919	1,434	1,562	1,140	0,638	1,649	0,614
144					1,603			0,606	1,829	0,692
168										0,717

Tabla 1b. Absorbancias, medidas a 546 nm, de la prueba E-H realizado a diferentes horas de la orina inicial recogida, para el grupo de hombres

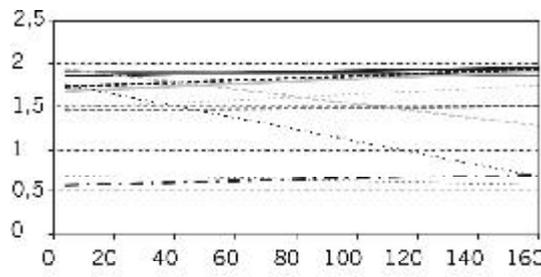
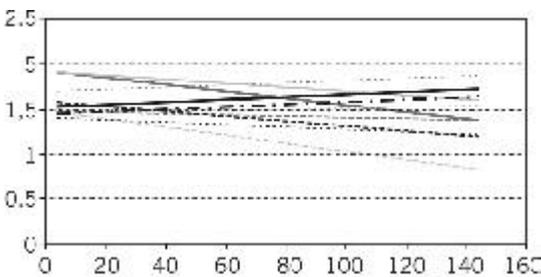


Figura 1a. Representación gráfica de los datos de la Tabla 1a

Figura 1b. Representación gráfica de los datos de la Tabla 1b

final (120 horas) fue de 1,140 lo que indicó una disminución en relación a los valores de abs iniciales. En las orinas recogidas tras 24 horas, casos 8 y 10 de la Figura 1b, sobre tener una previsible primera medida más baja, mantuvieron igual comportamiento en cuanto a la permanencia del metabolito en orina. Al comparar los valores obtenidos en el grupo de mujeres y de hombres no se apreciaron diferencias significativas al comparar las medias.

2ª valoración

En las Tablas 2a (mujeres) y 2b (hombres) y en las Figuras 2a (mujeres) y 2b (hombres) vienen representados los datos de abs repitiendo la prueba cada 24 horas para valorar su estabilidad con el mismo sobrenadante de la determinación inicial. Se observó como los valores de abs obtenidos son los más elevados, cuando se realizó la prueba a las 4 horas

Tabla 2a.
Absorbancias, medidas a 546 nm, a diferentes horas de la prueba de E-H realizado una sola vez inicial, para el grupo de mujeres

Horas	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 6	P 7	P 8	P 9	P 10
4		2,109	2,040	1,575				1,608		
10						1,370				
14	1,611									
20										1,522
21									1,598	
22							1,575			
23					1,583					
24		1,549	1,418	1,680				1,730		
48	1,490	0,648	0,468	0,791	0,777	0,622	0,812	1,149	0,869	0,958
72	1,474	0,649	0,387	0,671	0,430	0,355	0,576	1,002	0,635	0,659
96	1,135	0,526	0,348	0,616	0,341	0,237	0,522	0,921	0,546	0,524
120	1,146	0,465	0,350	0,604	0,294	0,258	0,482	0,860	0,509	0,527
144	1,058				0,259	0,292	0,421		0,466	0,526

Tabla 2b.
Absorbancias, medidas a 546 nm, a diferentes horas de la prueba de E-H realizado una sola vez inicial, para el grupo de hombres

Horas	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 6	P 7	P 8	P 9	P 10
4	1,727	1,812	1,563				1,927			
8						2,119				
17									1,554	
20					1,487					
24	1,523	1,469	1,719	1,772		1,604	1,003	0,751		0,536
48	1,227	1,655	0,975	1,448	0,858	0,855	0,567	0,4068	1,207	0,224
72	0,991	1,165	0,843	1,239	0,645	0,856	0,582	0,322	1,032	0,127
96	0,182	1,026	0,785	1,144	0,624	0,699	0,513	0,321	0,879	0,092
120	0,675	0,997	0,739	1,074	0,513	0,640	0,438	0,2828	0,888	0,061
144					0,487			0,246	0,814	

Figura 2a.
Representación gráfica de los datos de la Tabla 2a

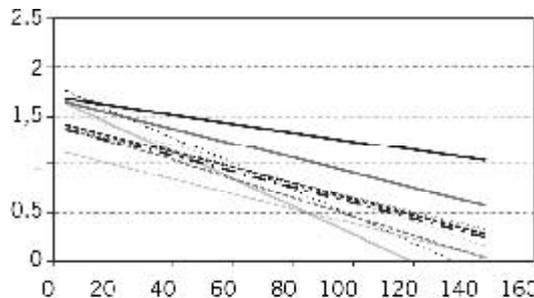
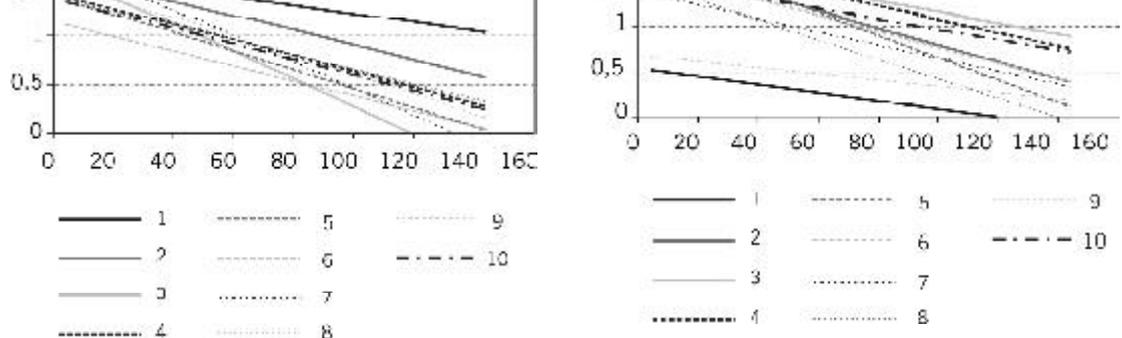


Figura 2b.
Representación gráfica de los datos de la Tabla 2b



de su recepción. Así en la Figura 2a (mujeres) las abs de los casos 2, 3, 4 y 8 son de 1,575 hasta 2,109 y en la Figura 2b las abs de los casos 1, 2, 3 y 7 son de 1,927 hasta 1,563. En las pruebas realizados a las 24 horas, casos 8 y 10 de la Figura 2b,

sobre tener una abs más baja, el comportamiento relativo a su estabilidad fue muy similar al resto de casos. Al comparar los valores obtenidos en el grupo de mujeres y de hombres no se apreciaron diferencias significativas al comparar las medias.

Horas	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 6	P 7	P 8
4	1,395	1,329	1,845	1,207	0,932		1,720	
5						1,677		1,015
7					0,696			
8	1,328		1,824	1,233			1,680	
9		1,320						1,845
11					0,607	1,611		
12	1,355			1,557				1,542
15			1,770			1,555		
16	1,369						1,496	
17		1,195						
19					0,412	1,660	0,829	
20				1,204				
22								0,794
24	1,293		1,717	0,524	0,166			
26		0,953				0,476		
28	1,195		1,050		0,109		0,565	0,135
30				0,306		0,214		
34	0,330	0,093	0,225		0,010			
36				0,385		0,210	0,412	0,104
40	0,414		0,285					
48	0,241						0,414	

Tabla 3a.
Absorbancias, medidas a 546 nm, de la prueba de E-H realizado a diferentes horas de la orina recogida, para el grupo de mujeres de 20 a 40 años=1, 3, 4, 6 y 7; mayor de 40 años=2, 5 y 8

Horas	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 6	P 7	P 8
4		1,714	1,667	1,727	1,812			1,681
5	1,533					1,646	2,108	
8		1,714	1,646				2,119	1,678
10					1,687			
11						1,699		
12		1,747	1,429					1,666
13	2,258			1,422			1,058	
16	2,260		1,418					1,604
18		1,719			1,289			
19							1,343	
20	1,983							
22		1,596	0,663	0,335				
24					0,473			
25						0,779	0,723	1,051
27			0,469					
28	0,826	1,050						
29				0,080		0,116		0,610
32					0,312		0,413	
33			0,269					0,216
36	0,770	0,575		0,039		0,039		0,230
40	0,440							
43					0,159		0,076	
46		0,282						
47	0,334							
48	0,236							

Tabla 3b.
Absorbancias, medidas a 546 nm, de la prueba E-H realizado a diferentes horas de la orina recogida, para el grupo de hombres de 20 a 40 años=1, 2, 6, 7 y 8; mayor de 40 años=3, 4 y 5

Figura 3a.
Representación
gráfica de los datos
de la Tabla 3a

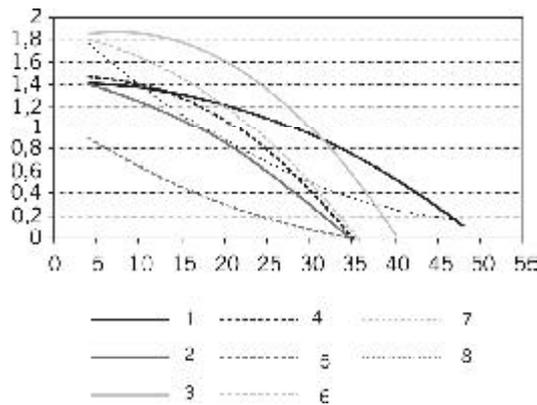
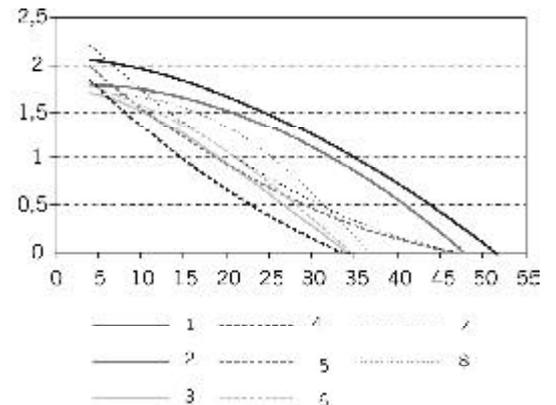


Figura 3b.
Representación
gráfica de los datos
de la Tabla 3b



3ª valoración

En las Tablas 3a (mujeres) y 3b (hombres) y en las Figuras 3a (mujeres) y 3b (hombres) vienen representados los datos obtenidos de eliminación del metabolito n-acetilisoniacid según sus valores de abs. La máxima concentración se observó a las 4 a 6 horas de la toma. La eliminación de Isoniacid fue diferente en cada caso pero de forma paulatina y homogénea. No se observaron diferencias significativas en los valores de absorbancia al comparar las medias del grupo de mujeres y de hombres. Desde las 35 a 45 horas se había eliminado en su totalidad. Al comparar los valores de absorbancia obtenidos en las personas con edades inferiores a 40 años y los obtenidos en personas con edades superiores a 40 años, no se observaron diferencias significativas en los dos primeros intervalos de tiempo (4-5h y de 19-25h). Sin embargo, al comparar los valores obtenidos en el último intervalo las diferencias fueron significativas, $p=0,024$. El índice de correlación de Pearson mostró un valor no significativo.

Discusión

En la 1ª valoración, la persistencia del metabolito n-acetilisoniacid en la primera muestra recogida fue estable durante los 6-7 días en que se realizaron las determinaciones y durante más días con alta probabilidad. Esta observación de la que existen escasos datos en la literatura, permite facilitar al enfermo en gran medida la realización de la prueba ya que resulta innecesario traer la muestra el mismo día de la recogida y tampoco se exigen más medios de conservación que los de mantener la muestra a temperatura ambiente y con ello mejora la adherencia. Además ayuda la labor del técnico que realiza la prueba,

al permitir hacer mediciones seriadas con un mismo blanco de comparación, sin cambios significativos en el resultado. Aun a pesar de haber disminuido la abs en los casos 6 de las mujeres (0,734) y los casos 7 (1,140) así como el 8 (0,751) y 10 (0,536) a las 24 horas en hombres, en todos estos casos la determinación cualitativa tras la realización de la prueba de Eidus Hamilton de forma clásica hubiera dado positivo, de ser aun posible ver el color.

En la 2ª valoración, tras la observación de los valores más elevados a las cuatro horas una vez realizado la prueba, se puede indicar su ejecución de forma preceptiva en el plazo de tiempo indicado y no posponer la realización de su lectura. Aunque se observan valores aún visibles a las 24 horas, caso 8, (0,751) y caso 10, (0,536) en hombres, es innecesario correr este riesgo si se va a realizar la prueba de Eidus Hamilton de forma clásica donde se tiende a obtener un color de máxima calidad y concentración.

Según se observó en el laboratorio, cuando se realizó la prueba de Eidus Hamilton de forma clásica, el color rojo violáceo que indica la positividad, se iba transformando en color rojo pálido, marrón, marrón-amarillento y amarillo semejante a la prueba en blanco con lo que dejaba de ser positivo, conforme disminuía la concentración del metabolito n-acetilisoniacid. Cuando los valores de abs de estas determinaciones eran inferiores a 150 - 200 el test era negativo al desaparecer el color visualmente, dándose la prueba como negativo de forma errónea, no así para valores superiores a 150-200²⁵.

En la 3ª valoración se observó la eliminación progresiva del metabolito (Figuras 3a y 3b), alcanzando el máximo de concentración entre las 4 a 6 horas de la toma, tal como indicó de forma similar Gurumuthy, *et al.*²⁷, al observar como tiempo máximo de con-

centración, 1,5 a 2,0 horas después de la toma y como a las 12 horas, se había eliminado el 60%. Estos resultados coinciden también con los de Seth et al. que observan la máxima concentración entre las 3 y 6 horas en individuos jóvenes. A los 30-45 horas se había eliminado el metabolito en su totalidad, valor ligeramente superior al de 24 horas reflejado por Seth, et al.²⁸.

La eliminación de la Isoniacida fue más rápida en las personas con edades superiores a 40 cuando ya habían transcurrido 34 horas pero este resultado debe ser valorado con cautela ya que el metabolismo de la Isoniacida no está influido por el sexo ni por la edad al estar el mecanismo de acetilación rápida controlado genéticamente²⁹ y además la correlación fue escasa.

Conclusiones

La prueba de Eidus-Hamilton realizado de forma clásica, continua siendo de extrema ayuda para el control de la tuberculosis cuando se quiere monitorizar el cumplimiento del tratamiento, que es la primera y más eficaz medida. Adquiere además su mayor importancia cuando se prescribe el tratamiento a pacientes con sospecha de mal cumplimiento ya que permite con una razonable seguridad, hacer patente una adherencia adecuada. Debe hacerse de forma rigurosa e inmediata para obtener los mejores resultados.

La prueba de Eidus-Hamilton modificado incorpora la espectrofotometría lo que permite de forma sencilla la cuantificación de la absorbancia por lo que detecta el metabolito cuando las dosis prescritas al ser diarias, son más bajas y en segundo lugar cuando la recogida de la orina no se ha realizado de forma adecuada y han transcurrido de 24-36 horas. Constituye una alternativa a la prueba de Eidus Hamilton realizado de forma clásica ya que es muy útil tras la utilización de la espectrofotometría y confiere un mayor grado de seguridad, aunque precisa un mayor aunque sencillo aporte tecnológico, con lo que disminuirían los falsos negativos con alta probabilidad. El coste de la prueba es escaso (2 Euros) dado que la espectrofotometría es de práctica obligada en los laboratorios de análisis clínicos y el espectrofotómetro de masas forma parte del utillaje habitual.

Existe una mayor flexibilidad en el tiempo de recogida y transporte de las muestras al laboratorio, aunque la medida de la prueba de E-H modificado hay que realizarla dentro de las primeras hora de su realización.

Bibliografía

1. Orden de la Conselleria de Sanidad de la Comunidad Valenciana de 26 Junio de 2001.
2. Centro para la Prevención y Control de la Tuberculosis y Otros: Manual de prevención de la tuberculosis: Estudio convencional de contactos y quimioprofilaxis de antituberculosos. Generalitat Valenciana 1998.
3. Grupo de Estudio del Taller de 1999 de la Unidad de Investigación en Tuberculosis de Barcelona. Documento de Consenso sobre tratamientos directamente observados en Tuberculosis. *Med Clin (Barcelona)* 2000; 115:749-57.
4. Dick J, Van der Walt H, Hoogendoorn C, Tobias B. Development of a health education booklet to enhance adherence to tuberculosis treatment. *Tubercle* 1996; 77:173-7.
5. Johansson E, Diwan VK, Huong ND, Ahlberg BM. Stalfand patient attitudes to tuberculosis and compliance with treatment: an exploratory study in a district in Vietnam. *Tubercle* 1996;77:178-83.
6. Cayla JA, Galdos-Tanguis N, Garcia de Olaya P, Brugal MT, Jansa JM, Miranda PSC. La tuberculosis en Barcelona. Informe 1994 Barcelona. Ayuntamiento de Barcelona 1995.
7. World Health Organization, TB. A crossroads WHO Report on the Global Tuberculosis Epidemic 1998 Ginebre: WHO, 1999.
8. Dier M. For the MPIR study group. Incidence of tuberculosis in Spain: preliminary results from the Multicenter Project for TB Reseach (MPRT). *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2(supl 2):200-I.
9. Grupo de trabajo de PMIT. Incidencias de la tuberculosis en España: resultados del proyecto Multicéntrico de Investigación en Tuberculosis (PMIT). Ministerio de Sanidad y Consumo, Instituto de salud Carlos III. *Med Clin (Barcelona)* 2000;114:530-7.
10. Singapore Tuberculosis Service British Medical Research Council. Long-term follow-up of a clinical trial of six-month and four-month regimens of chemotherapy in the treatment of pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1986;33:779-83.
11. Espinar Martín A, Pina Gutiérrez JM, Miret Cuadras P. Tuberculosis pulmonar: retratamiento. *Arch Bronconeumol* 1983;19:258-68.
12. Miralles P, Moreno S, Parras F, Cosin J, Cercenado E, Ortega A, et al. Tuberculosis resistente a fármacos en un Hospital General. *Rev Clin Esp* 1996;196:21-3.
13. Grupo de estudio de Tuberculosis Resistente de Madrid. Estudio transversal multihospitalario de tuberculosis y resistencia en Madrid (Oct 1993 - Abril 1994). *Med Clin (Barcelona)* 1996;106:1-6.
14. Espinal M, Laszlo A, Simonsen L, et al. Global trends in resistance to antituberculosis drugs. *N Engl J Med* 2001;344:1294-303.

15. Cayla JA, Galdós-Tanguis H, Jansa JM, García de Olaya P, Brugal MT, Penalba H. Evolución de la tuberculosis en Barcelona (1987-1995). Influencia del virus de la inmunodeficiencia humana y de las medidas de control. *Med Clin (Barcelona)* 1998;111:608-15.
16. NettoEm Dyc C, Raviglione MC. Progress in global tuberculosis control, 1995-1996, with emphasis on 22 high incidence countries. Global Monitoring and Surveillance Project. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999;3:310-20.
17. Dye C, Garnett GP, Sleeman K, Williams BG. Prospects for worldwide tuberculosis control under WHO DOTS strategy: Directly observed short-course therapy. *Lancet* 1998;352:1886-91.
18. Volmink J, Matchaba P, Garner P. Directly observed therapy and treatment adherence. *Lancet* 2000;355:1345-50.
19. Cayla JA, *et al.* Documento de consenso sobre la prevención y control de la tuberculosis en España. *Med Clin (Barcelona)* 1999;13:710-5.
20. Porsick Carol J. Compliance with tuberculosis therapy. *Medical Clinics of Nort America* 1993;77:1289-1301.
21. Recomendaciones de la Comisión de tratamiento (ULCTER). Régimen de Quimioterapia antituberculosa. *Bol. ULCTER* 1998;53:24-31.
22. Lobo Barrero CA, Pérez Escolano E. Tratamiento de la tuberculosis: Cumplimiento, abandonos y tratamientos supervisados. *ArchBronconeumol* 1997;33:588-90.
23. Caminero JA, Pavón JM, Rodríguez de Castro F, Díaz F, Juliá G, Cayla JA, *et al.* Evaluation of a directly observed 6 month fully intermittent (f twice weekly), tuberculosis treatment for patients superted of poor complice. *Thorax* 1996;51:1130-3.
24. Marco A, Cayla JA, Serra M, Pedro R, Sauzame C, Guerrero R, *et al.* Precitors of adherence to tuberculosis treatment in a supervised therapy program for prisoner before and ofter release. *Eur Repts J* 1998;12:967-71.
25. Eidus L, Hamilton EJ. A new method for the determination of n-acetylisoniazid in urine of ambulatory patients. *Am Rev Respir Dis* 1964;89:587-8.
26. Ruiz Manzano J, Andreo F. Tuberculosis una perspectiva actual: Tratamiento. *JANO* 2001;23-29:Vol LX n° 1380 77-81.
27. Gurumurthy P, Ramachandra G, Vijayalakshmi S, Kumar AK, Venkatesan P, Chandrasekaran V, Vjayasekaran V, Kumaraswami V, Prabhakar R. Bioavailability of rifampicin, isoniazid and pyrazinamide in triple drug formulation: comparison of plasma and urine kinetics. *T J Tuberc Lung Dis* 1999 Feb;3(2):119-25.
28. Seth V, Seth SD, Beotra A, Semwal OP, D´ ty V. Mukhopadhy S. Isoniazid and acetylisoniazid kinetics in serum and urine in pulmanary primary complex with intermittent regimen. *Indian Pediatric* 1994 Mar; 31(3):279-85.
29. Harrinson. *Principios de medicina interna*. Madrid: Ed 14, 1998:Vol I:474-5.