



UNIVERSIDAD DEL ROSARIO



UNIVERSIDAD CES

Un compromiso con la excelencia
Resolución del Ministerio de Educación Nacional No. 1271 del 22 de marzo de 2007

**EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE LA PRUEBA XPERT MTBD/RIF® PARA
LA DETECCIÓN DE TUBERCULOSIS EN UN HOSPITAL PÚBLICO DE
BUCARAMANGA**

INVESTIGADOR

EDITH VERENICE SANABRIA DELGADO

ASESOR DEL PROYECTO

DR. JOSÉ BAREÑO SILVA

UNIVERSIDAD CES - FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
UNIVERSIDAD DEL ROSARIO - ESCUELA DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA
SALUD

BOGOTÁ D.C.

2018



UNIVERSIDAD DEL ROSARIO



UNIVERSIDAD CES

Un compromiso con la excelencia
Resolución del Ministerio de Educación Nacional No. 1271 del 22 de marzo de 2007

EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE LA PRUEBA XPERT MTBD/RIF® PARA LA
DETECCIÓN DE TUBERCULOSIS EN UN HOSPITAL PÚBLICO DE
BUCARAMANGA

EDITH VERENICE SANABRIA DELGADO
INVESTIGADOR PRINCIPAL

INVESTIGADOR
EDITH VERENICE SANABRIA DELGADO

ASESOR DEL PROYECTO
DR. JOSÉ BAREÑO SILVA

UNIVERSIDAD CES - FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
UNIVERSIDAD DEL ROSARIO - ESCUELA DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA
SALUD
MAESTRÍA EN EPIDEMIOLOGÍA
BOGOTÁ D. C.
2018



UNIVERSIDAD DEL ROSARIO



UNIVERSIDAD CES

Un compromiso con la excelencia
Resolución del Ministerio de Educación Nacional No. 1271 del 22 de marzo de 2007

Nota de salvedad de responsabilidad institucional

La Universidad del Rosario y la Universidad CES no se hacen responsables de los conceptos emitidos por el investigador en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia.



ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	8
ABSTRACT	9
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
2. JUSTIFICACIÓN	12
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	13
4. MARCO TEÓRICO	14
4.1. Etiología de la Tuberculosis	14
4.2. Resistencia a los medicamentos	15
4.2.1 Definiciones generales sobre resistencia	16
4.2.2. Definiciones de resistencia según número y tipo de fármacos	17
4.2.3. Drogas de primera línea y mecanismos moleculares de resistencia en <i>M. Tuberculosis</i>	18
4.2.3.1. Resistencia a Isoniazida (INH)	19
4.2.3.2. Resistencia a Rifampicina (RIF)	20
4.2.3.3. Resistencia a Pirazinamida	21
4.2.3.4. Resistencia a Etambutol	21
4.3. Diagnóstico de la Tuberculosis	22
4.3.1. Diagnóstico microbiológico convencional	24
4.3.1.1. Diagnóstico por baciloscopia	24
4.3.1.2. Diagnóstico por cultivo	27
4.3.2. Diagnóstico molecular por PCR en tiempo real Xpert MTB/RIF®	28
5. HIPÓTESIS	32
6. OBJETIVOS	33
6.1. General	33
6.2. Específicos	33
7. METODOLOGÍA	34
7.1. Enfoque metodológico de la investigación	34
7.2 Tipo de estudio	34
7.3. Población	34



7.4. Población elegible	34
7.5. Muestra	35
7.6. Criterios de selección	35
7.6.1. Criterio de inclusión	35
7.6.2. Criterios de exclusión	35
7.7. Técnicas para la caracterización de las muestras	35
7.8. Descripción de las variables	39
7.9. Técnicas de recolección de información	40
7.9.1. Fuentes de información	40
7.9.2. Instrumento de recolección de la Información	40
7.9.3. Proceso de obtención de la información	41
7.10. Control de errores y sesgos	41
7.11. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	42
8. CONSIDERACIONES ÉTICAS	44
9. RESULTADOS	45
9.1. Características demográficas y clínicas de la población	45
9.2. Prevalencia de Tuberculosis activa por prueba diagnóstica	47
9.3. Concordancia entre pruebas	48
9.4. Sensibilidad, especificidad, valores predictivos y razón de verosimilitud	48
10. DISCUSIÓN	50
11. CONCLUSIONES	54
12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
13. ANEXOS	61
13.1. Anexo1: Libro de registro de baciloscopia y cultivo	61



LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Descripción de los medicamentos antituberculosos

Tabla 2: Descripción de tipo de resistencia de M. tuberculosis

Tabla 3: Resultados e interpretaciones de la prueba Xpert MTB/RIF

Tabla 4: Recomendaciones de utilización del Xpert-MTB/Rif® en condiciones de programa en Latinoamérica

Tabla 5: Descripción de variables

Tabla 6: Características de los pacientes incluidos en el estudio

Tabla 7: Municipio de residencia de los pacientes incluidos en el estudio

Tabla 8: Prevalencia según las diferentes pruebas

Tabla 9. Características por tipo de prueba realizada

Tabla 10. Resultados del Coeficiente Kappa

Tabla 11. Resultados de la prueba Xpert® MTB/RIF comparado con baciloscopia y cultivo



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Calidad de la muestra de esputo

Figura 2. Escala para el informe de los resultados de extendidos examinados por la técnica de Ziehl Neelsen

Figura 3. Método del cultivo Ogawa Kudoh



RESUMEN

Introducción: Colombia ha adoptado las recomendaciones internacionales para el uso del método molecular de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), en tiempo real (RT - PCR) Xpert MTB/RIF® para la detección de Tuberculosis y de la resistencia a Rifampicina. El objetivo de este proyecto fue evaluar el desempeño de esta prueba en un Hospital Público de Bucaramanga en el primer año de su implementación.

Metodología: estudio analítico de corte transversal de pruebas diagnósticas, que evaluó el desempeño del Xpert MTB/RIF® comparado con la baciloscopia y el cultivo, se determinó sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo y razón de verosimilitud positiva y negativa.

Resultados: se incluyeron 512 pacientes, el 15,6% fueron positivos por baciloscopia, el 14,7% por cultivo y el 20,9% por Xpert MTB/RIF®. Los análisis fueron positivos principalmente en hombres, en menores de 45 años y con muestra de lavado broncoalveolar para las tres pruebas. La prueba Xpert MTB/RIF® tuvo una sensibilidad de 100% (IC95% 99,4-100) y una especificidad de 93,7 % (IC95% 91,3-96,1) comparada con los resultados de la baciloscopia. Con respecto al cultivo, la prueba Xpert MTB/RIF® tuvo una sensibilidad de 95,9% (IC95% 90,6-100) y una especificidad de 93,4 % (IC95% 90,6-100).

Discusión: la prueba Xpert MTB/RIF® presentó buena sensibilidad y especificidad y está recomendada para mejorar los tiempos de respuesta, da resultados más rápidos y conducen a un inicio más temprano del tratamiento, mejores resultados para el paciente y mayores oportunidades para interrumpir la transmisión.

PALABRAS CLAVE:

Tuberculosis; *Mycobacterium tuberculosis*; Xpert MTB/RIF®; diagnóstico molecular; sensibilidad y especificidad



ABSTRACT

Introduction: Colombia has adopted the international recommendations for the use of the molecular method of Polymerase Chain Reaction (PCR), in real time (RT-PCR) Xpert MTB/RIF® for the detection of Tuberculosis and resistance to Rifampicin. The objective of this project was to evaluate the performance of this test in a public hospital in Bucaramanga in the first year of its implementation.

Methodology: transversal analysis (cross-sectional) of diagnostic tests, which evaluated the performance of Xpert MTB/RIF® compared with smear and culture, sensitivity, specificity, positive and negative predictive value and positive likelihood ratio were determined negative.

Results: 512 patients were included, 15.6% were positive by smear microscopy, 14.7% by culture and 20.9% by Xpert MTB/RIF®. Analyzes were positive mainly in men, in those under 45 years of age and with a bronchoalveolar lavage sample for all three tests. The Xpert MTB/RIF® test had a sensitivity of 100% (95% CI 99.4-100) and a specificity of 93.7% (95% CI 91.3-96.1) compared with smear results. With respect to the culture, Xpert MTB/RIF® test had a sensitivity of 95.9% (95% CI 90.6-100) and a specificity of 93.4% (95% CI 90.6-100).

Discussion: the Xpert MTB/RIF® test presented good sensitivity and specificity and is recommended to improve response times, since it gives faster results and leads to an earlier start of treatment, better results for the patient and greater opportunities to interrupt the treatment transmission.

KEYWORDS:

Tuberculosis; *Mycobacterium tuberculosis*; Xpert MTB/RIF®; Molecular diagnosis; sensitivity and specificity.



1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el mundo, la batalla contra la Tuberculosis (TB) continúa y son muchos los intereses que buscan el freno de esta enfermedad, los esfuerzos se ven reflejados en el progreso para la prevención, diagnóstico y tratamiento. Sin embargo, el incumplimiento de las metas mundiales establecidas en el marco de los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM), aun revelan que la Tuberculosis es una de las mayores amenazas para la salud pública global junto con el VIH. (1)

El informe mundial sobre la tuberculosis de la OMS, reflejan que la incidencia de la enfermedad en el año 2014 es mayor que el de años anteriores en los países con datos analizados, 9.6 millones de personas, de los cuales 17% (1.5 millones) fallecieron a consecuencia de la Tuberculosis: 59% hombres, 32% mujeres y 9,3% niños (1).

Hasta la semana epidemiológica 52 de 2017 se notificaron al Sivigila 14.187 casos de tuberculosis todas las formas, de los cuales, 12.798 correspondieron a casos nuevos, para una incidencia de tuberculosis en el país de 26,0 casos por 100 000 habitantes en este periodo. La brecha entre la incidencia estimada y la reportada es cada vez menor, sin embargo, en los últimos años, esta última se ha mantenido sin muchos cambios (entre 24 y 26 casos por 100.000 habitantes). Santander reportó un total de 522 casos nuevos de tuberculosis pulmonar y 84 casos de tuberculosis extrapulmonar, para una incidencia de 29,1 por 100.000 habitantes (2).

Se estima que el diagnóstico y tratamiento eficaces de la Tuberculosis han permitido salvar 43 millones de vidas entre 2000 y 2014. (1) La meta establecida en los ODM de frenar y revertir la incidencia de la Tuberculosis se ha alcanzado en todo el mundo, en las seis regiones de la OMS y en 16 de los 22 países con mayor carga, en los que se produce el 80% de los casos. A nivel mundial, la



incidencia de la Tuberculosis ha disminuido en un promedio de un 1,5% por año desde 2000 y es actualmente un 18% más baja que en 2000 (1). Por lo anterior, la búsqueda e implementación de nuevos métodos de diagnóstico rápido y veraz, para continuar con esta tendencia se hacen imprescindibles.

El resurgimiento de la Tuberculosis con características epidémicas y la aparición de cepas multidrogorresistente (MDR), hace imperativo el diseño de estrategias para la aplicación de nuevos métodos de diagnóstico de detección de Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) y de susceptibilidad a drogas que permita obtener resultados oportunos (3). Sin duda, los nuevos métodos moleculares que detectan la resistencia a antibióticos proveen información de gran valor para el manejo del paciente en varios aspectos (4, 5).

En el año 2011, el Fondo Financiero de Proyectos de Desarrollo (FONADE) suscribió el Acuerdo de Subvención No. COL 011-G05-T (Convenio No. 211032) con el Fondo Mundial para fortalecer la estrategia “Alto a la Tuberculosis en 8 municipios prioritarios de Colombia”, en la cual se entregaban fondos para realizar actividades colaborativas con el Ministerio de Salud, el Instituto Nacional de Salud (INS), la Organización Internacional para las Migraciones, la Liga Antituberculosa Colombiana y la Organización Panamericana de la Salud (OPS), para cumplir con objetivos específicos de la lucha contra la Tuberculosis.

Con el proyecto se entregó al Hospital Público de Bucaramanga el equipo Gene Xpert MTB/RIF®, los insumos necesarios para su implementación durante 24 meses y la capacitación requerida para su trabajo. Por lo anterior, se pretendió analizar los resultados de esta implementación y determinar el verdadero impacto generado por esta tecnología al diagnóstico de la Tuberculosis en esta institución pública colombiana.



2. JUSTIFICACIÓN

Una de las prioridades mundiales para el control de la tuberculosis, es mejorar la detección temprana de casos nuevos, sobre todo aquellos que cuentan con un resultado de baciloscopia negativa, en pacientes con coinfección VIH y para el control de Tuberculosis multidrogorresistente (TB-MDR) (6).

En septiembre de 2010, la Organización Mundial de la Salud (OMS) convocó a un grupo de expertos para revisar la evidencia sobre la exactitud del ensayo Xpert MTB/RIF® (Cepheid, Sunnyvale, CA, Estados Unidos) con el fin de recomendar la prueba e implementarla como nuevo método de diagnóstico rápido, enfocando estas directrices a su utilización en población de alto riesgo, política que fue actualizada en el año 2013 (7).

Los meta-análisis, meta-regresiones y estudios de costo efectividad revisados evidenciaban la especificidad y sensibilidad del Xpert MTB/RIF® en la detección de Tuberculosis y su resistencia a Rifampicina, tanto de muestras pulmonares y extrapulmonares, en adultos y niños, VIH positivo o negativo que hasta el momento se habían divulgado y que dieron lugar a nuevos algoritmos diagnósticos para la detección de Tuberculosis con el uso de esta prueba molecular (7).

Es necesario generar evidencias propias que demuestren la oportunidad de la prueba en contextos nacionales sobre todo en ciudades priorizadas, donde la carga de Tuberculosis es alta y existe la necesidad de una detección rápida en pacientes que no diagnosticados y sin intervención, paulatinamente se conviertan en infectantes hasta de cepas MDR.



3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el desempeño de la prueba molecular Xpert MTB/RIF® en el diagnóstico de Tuberculosis, en el primer año de implementación del método en un Hospital Público de Bucaramanga?



4. MARCO TEÓRICO

4.1. Etiología de la Tuberculosis

La Tuberculosis es una enfermedad infectocontagiosa causada por bacterias pertenecientes al Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB), este complejo incluyen especies y subespecies de significancia humana y veterinaria como: *Mycobacterium tuberculosis*, el miembro más conocido y el agente más importante de la Tuberculosis en humanos, además *Mycobacterium bovis* (incluido *Mycobacterium bovis* variedad BCG), *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium microti* y *Mycobacterium canetti*, una subespecie de *M. tuberculosis* reportada en Tuberculosis humana (8).

Estructuralmente las micobacterias se empezaron a estudiar desde la década de los 60 hasta los 70, en los que se representó en gran medida las características biológicas que ahora conocemos. Microscópicamente está integrado por bacilos largos de 3 a 5µm de longitud o curvos en forma de maza, inmóviles, no esporulados, con abundantes gránulos citoplasmáticos, que poseen una resistencia mayor a la tinción por los colorantes comunes, pero una vez teñidos son resistentes a la decoloración con una mezcla de alcohol ácido, algunos son aerobios y otros microaerófilos. Son de lento crecimiento, aproximadamente 20 días; se destaca en su estructura una gran riqueza en lípidos (20-60%). El contenido de bases de guanina más citosina en la molécula de ADN es de 62 a 70 moles % (9).

El Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) tiene una estructura que provee protección y soporte, además de poseer mecanismos de intercambio de sustancias entre el microorganismo y el medio ambiente, ésta es fundamentalmente de naturaleza lipídica, a diferencia de otras bacterias que contienen en mayor porcentaje proteínas y lipopolisacáridos. La envoltura consta de dos partes principales: la membrana plasmática y alrededor de ella, la pared



celular. La primera le otorga a la célula protección osmótica y transporte de iones y moléculas, en tanto que la segunda le brinda soporte mecánico y protección (4).

La pared celular está constituida por tres capas: capa interna moderadamente electrón-densa, compuesta por el peptidoglicano cuya estructura es similar a la de otras bacterias, capa media, más ancha que la anterior y electrón-transparente, compuesta por polisacárido, el arabinogalactano, cuyos extremos distales están esterificados con ácidos grasos de alto peso molecular, los ácidos micólicos, de tamaño y estructura única para las micobacterias (70-90 átomos de carbono) y capa externa de grosor variable, electrón-opaca, se le atribuye una estructura glucolípida.

Además de los componentes anteriores existen proteínas asociadas a la pared, algunas con función enzimática (necesarias para la construcción y reconstrucción de los polímeros de la pared durante el proceso de división celular y crecimiento), otras, recientemente descubiertas, con función de porina. Estas últimas, encontradas en bajo número, lo que está de acuerdo con la baja permeabilidad de las micobacterias a las moléculas hidrofílicas (4).

4.2. Resistencia a los medicamentos

En la década de los 80`s, se declara una emergencia a nivel mundial debido a la aparición de cepas resistentes a drogas antimicrobianas. A partir de 1990 inicia la propagación de cepas de micobacterias resistentes a múltiples antibióticos, particularmente a drogas antituberculosas de primera línea (Isoniazida, Rifampicina, Pirazinamida y Etambutol) (Tabla 1), problemática que se ha multiplicado, por el incremento de infecciones micobacterianas en pacientes coinfectados con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) (10).

Desde 1991, la OMS estableció la terapia multi-droga debido a la aparición de cepas mutantes de *M. tuberculosis* con resistencia a algunos de los antibióticos



utilizados para el momento, bajo la hipótesis de que la cepa resistente podía ser controlada, al incluir al menos otros dos componentes antimicrobianos (11).

Tabla 1: Descripción de los medicamentos antituberculosos

Grupo	Presentación	Medicamento	Abreviatura
1	Orales de primera línea	Isoniazida	H
		Rifampicina	R
		Etambutol	E
		Pirazinamida	Z
2	Inyectables	Amikacina	Am
		Kanamicina	Km
		Capreomicina	Cm
3	Fluoroquinolonas	Levofloxacina	Lfx
		Ofloxacina	Ofx
		Moxifloxacina	Mfx
4	Orales de segunda línea (Bacteriostáticos)	Etionamida	Eto
		Protionamida	Pto
		Cicloserina	Cs
		Acido p-aminosalicilico	PAS

Fuente: Tomado de: Lineamientos para el manejo programático de pacientes con tuberculosis farmacorresistentes

<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/lineamientos-tb-farmacorresistente.pdf>

4.2.1 Definiciones generales sobre resistencia

Las cepas de *M. tuberculosis* resistentes a drogas se definen como tal por su capacidad para crecer a mayores concentraciones de antibióticos que las cepas sensibles. Las cepas silvestres son aquellas que nunca han estado en contacto con drogas antituberculosas, mientras que las cepas con resistencia natural son cepas silvestres resistentes a una droga dada, sin haber estado expuestas a la misma. (11).

La resistencia primaria se refiere a infección de un paciente que nunca ha recibido tratamiento, por una cepa resistente. Ésta incluye infección por cepas silvestres que nunca han estado en contacto con drogas (resistencia natural) y también la



resistencia que se desarrolla como consecuencia de la exposición de una cepa a determinada droga, pero en otro paciente. (12).

Se define como *resistencia secundaria o adquirida*, aquella que se desarrolla en pacientes que han recibido quimioterapia antituberculosa, debido a la selección de cepas mutantes resistentes espontáneas, en la mayoría de los casos, motivado a un tratamiento inadecuado o incumplimiento de la terapia (11, 12). La resistencia primaria es informativa de deficiencias y fracasos en los programas de control de la tuberculosis, mientras que la resistencia adquirida es indicativa de deficiencias en el tratamiento actual de un paciente con tuberculosis (Tabla 2) (13).

Tabla 2: Descripción de tipo de resistencia de *M. tuberculosis*

Tipos de resistencia	Descripción
<u>Resistencia natural:</u>	Característica del <i>M. tuberculosis</i> desde su origen. Se presenta resistencia en cepas silvestres, como fruto de su multiplicación continua, por mutaciones espontáneas (al azar). Esta mutación es independiente para cada uno de los fármacos.
<u>Resistencia en casos nuevos</u>	Casos no tratados: Es la presencia de resistencia en cepas de <i>M. tuberculosis</i> en casos nuevos que nunca han recibido medicamentos antituberculosos o han recibido el tratamiento por menos de un mes.
<u>Resistencia en casos previamente tratados:</u>	Es la presencia de resistencia en cepas de <i>M. tuberculosis</i> en pacientes que han recibido medicamentos antituberculosos por más de un mes. Esta resistencia es ocasionada por la poca adherencia al tratamiento, prescripción médica inapropiada, abastecimiento irregular, mal absorción y mala calidad de los medicamentos.

Fuente: Said-Fernández S, Becerrill-Montes P, Molina-Salinas G, Barrios-García H, Vargas-Villarreal J. Tuberculosis causada por cepas de *Mycobacterium tuberculosis* drogoresistentes.

4.2.2. Definiciones de resistencia según número y tipo de fármacos

La circular 0007 de 2015 que actualiza los lineamientos para el manejo programático de Tuberculosis y Lepra en Colombia, clasifica los tipos de



resistencia conforme a los medicamentos afectados (14) como se muestra a continuación:

Monorresistencia: Cepa de *M. tuberculosis* resistente in vitro a un fármaco antituberculoso.

Polirresistencia: Cepa de *M. tuberculosis* resistente in vitro a más de un fármaco antituberculoso diferente de Isoniazida (H) y Rifampicina (R) simultáneamente.

Multirresistencia (MDR TB): Cepa de *M. tuberculosis* resistente in vitro a R e H, simultáneamente o combinado con otros fármacos antituberculosos.

Tuberculosis extensivamente resistente a fármacos (XDR TB): Casos MDR, resistentes in vitro a una fluoroquinolona y al menos uno de los medicamentos inyectables de segunda línea (amikacina, kanamicina o capreomicina).

Resistencia global. Prevalencia de la resistencia a cualquier medicamento en una población. Puede determinarse en casos no tratados y en casos previamente tratados (14).

4.2.3. Drogas de primera línea y mecanismos moleculares de resistencia en *M. Tuberculosis*

La resistencia a drogas en *M. tuberculosis* se debe predominantemente a alteraciones en la secuencia de nucleótidos en genes que codifican blancos de antibióticos y a diferencia de otras bacterias, en *M. tuberculosis* no se han reportado mecanismos de adquisición de genes de resistencia vía plásmidos o transposones. Las micobacterias del complejo tuberculosis desarrollan resistencia a múltiples drogas por la acumulación de mutaciones individuales en varios genes,



cada uno de los cuales es responsable de la resistencia a un antibiótico particular (12).

4.2.3.1. Resistencia a Isoniazida (INH)

La isoniazida (Ácido Nicotínico Hidrazida o INH) tiene acción bactericida al interferir con la biosíntesis de ácidos micólicos. Es una prodroga que al ser captada por el bacilo, es activada por el sistema catalasa-peroxidasa, de manera que la ausencia de actividad catalasa, debido a mutaciones en el gen *katG*, codificante de esta enzima, es uno de los mecanismos de resistencia a INH.

Las cepas de *M. tuberculosis* con mutaciones en el gen *katG* exhiben poca o ninguna actividad catalasa y son altamente resistentes a INH (MIC >32 µg/ml). Las mutaciones se concentran en una región codificante del gen *katG*, que comprende los codones 300 al 507, siendo las más frecuentes las sustituciones de la serina 315 por treonina (S315T) y el residuo de arginina 463 por leucina (R463L). Estas mutaciones explican aproximadamente el 50% de los casos de aislados clínicos resistentes a INH (12, 13).

Por otra parte, la enzima Enoil ACP Reductasa, involucrada en los pasos de elongación de ácidos grasos, codificada por gen *inhA* se identificó como un blanco de acción de INH. El intermediario de INH, cuya activación depende de la actividad catalasa-peroxidasa intacta, inhibe la actividad de la enzima *inhA* y en consecuencia la síntesis de ácidos micólicos. Las mutaciones en el gen *inhA* inducen sobreexpresión del gen *inhA* y niveles elevados de la enzima enoil reductasa en cantidades que superan el poder inhibitorio de INH. Las mutaciones en *inhA* están asociadas a aproximadamente al 25% de los casos de resistencia a INH, generalmente con bajos niveles de resistencia (MIC1mg/ml) (12, 13).

La investigación de otros genes involucrados en resistencia a INH que explicaran el mecanismo de resistencia del 10-20% de cepas que carecían mutaciones en



katG o *inhA* condujo a la identificación del gen *ahpC*, codificante de la enzima alquil hidroperóxido reductasa, involucrada en la respuesta a estrés oxidativo. Las mutaciones en *aphC* están asociadas a aproximadamente un 10 a 15% de aislados clínicos resistentes a INH y actualmente se investigan otros genes candidatos asociados con resistencia a este antibiótico (15).

4.2.3.2. Resistencia a Rifampicina (RIF)

La rifampicina es un antibiótico de amplio espectro clave en la estrategia DOTS propuesta por la OMS y el mecanismo de resistencia a este antibiótico es uno de los primeros caracterizados a nivel molecular. El mecanismo de acción de la rifampicina consiste en que el antibiótico se une a la ARN polimerasa procarionta, la enzima responsable del proceso de transcripción de genes, y al inhibir la expresión de genes, la rifampicina conduce a la muerte de la célula. La resistencia a rifampicina se explica por mutaciones en el gen *rpoB*, el cual codifica la subunidad B de la ARN polimerasa y las alteraciones en esta subunidad impiden que la rifampicina interactúe adecuadamente con la ARN polimerasa e inhiba la transcripción (16).

Se ha demostrado que la resistencia a rifampicina en *M. tuberculosis* se explica en un 95% a 98% por mutaciones en el gen *rpoB*, las cuales generalmente se localizan en un corto segmento de aproximadamente 81 pb que incluye los codones 507 a 533 del gen *rpoB*. Las mutaciones en esta región incluyen delecciones, inserciones, sustituciones, siendo las más frecuentes, las mutaciones en codones para asparagina 516, histidina 526 y serina 531, de manera que los métodos genotípicos para ensayar resistencia a rifampicina se basan en la detección de estas mutaciones, aunque se han encontrado mutaciones en otras regiones del gen, pero con menor frecuencia (16).



4.2.3.3. Resistencia a Pirazinamida

La pirazinamida es un compuesto sintético redescubierto en la década de los 80 que ha facilitado el tratamiento antituberculoso de corta duración. Su mecanismo de acción no ha sido bien dilucidado, aunque se ha señalado la importancia de la acción de la enzima pirazinamidasa. Las cepas de micobacterias susceptibles a pirazinamida sintetizan pirazinamidasa, una enzima que transforma la pirazinamida en su metabolito activo, el ácido pirazinoico, el cual además de su actividad específica parece tener la capacidad de disminuir el pH del medio intracelular por debajo de los límites de tolerancia de la bacteria.

En cepas de *M. tuberculosis* con resistencia adquirida y *M. bovis* con resistencia constitutiva a pirazinamida, se han identificado interrupciones en el gen *pncA*, codificante de la enzima pirazinamidasa/nicotinamidasa. Entonces, uno de los mecanismos de resistencia a pirazinamida propuestos hasta el presente es la deficiencia en pirazinamidasa, con la subsecuente pérdida de la capacidad de activar el antibiótico (12, 17).

4.2.3.4. Resistencia a Etambutol

El etambutol es un compuesto sintético que actúa como bacteriostático, cuyo mecanismo de acción es inhibir la síntesis de componentes de la pared micobacteriana a las dosis habituales. Las alteraciones génicas identificadas hasta ahora se concentran en una región designada como *embCAB*, que incluye genes codificantes para arabinosiltransferasas, enzimas que participan en la síntesis de componentes únicos de la pared celular de micobacterias. Las mutaciones en la región *emb* se asocian a altos niveles de resistencia y se han identificado en aproximadamente el 65% de los aislados clínicos resistentes a etambutol (11, 12).



4.3. Diagnóstico de la Tuberculosis

El diagnóstico de certeza de tuberculosis puede hacerse en forma confiable en el laboratorio demostrando la presencia de bacilos en una muestra pulmonar o extrapulmonar por medio de la baciloscopia (examen microscópico) o el cultivo, pero la posibilidad de un diagnóstico rápido de tuberculosis y determinación de patrón de susceptibilidad de una cepa es muy limitado por estos procedimientos convencionales. El procedimiento gold estándar o de oro para el diagnóstico consiste en aislar la bacteria a través del cultivo primario en medio sólido, seguido de una segunda ronda de cultivo para ensayar susceptibilidad a drogas. *M. tuberculosis* es un microorganismo de crecimiento lento, con un tiempo de generación estimado en 18 a 24 horas, haciéndose las colonias visibles a las 3 a 4 semanas de incubación y en casos extremos, el aislamiento primario puede extenderse hasta 8 semanas.

El tiempo mínimo promedio para el reporte definitivo de susceptibilidad a drogas, por procedimientos bacteriológicos convencionales, es de aproximadamente 45 días, pudiendo requerir hasta 3 semanas adicionales. Otra desventaja de los métodos convencionales de susceptibilidad a drogas es la inestabilidad de los componentes activos de la droga en diferentes medios de cultivo (18, 19).

El enfoque genético para la detección de resistencia a rifampicina puede arrojar resultados definitivos en pocas horas o días. Debido a que las mutaciones se concentran en una región del gen *rpoB*, una estrategia posible para su identificación consiste en amplificar por PCR la región afectada, utilizando oligonucleótidos que delimitan dicha región.

El primer paso consiste en amplificar por PCR, el fragmento de ADN del gen donde se localizan mutaciones asociadas a resistencias a antibióticos. El análisis post-amplificación consiste en la detección de alteraciones en los sitios de corte por enzimas de restricción (RFLP) o alteraciones conformacionales de la molécula de ADN. La secuenciación es importante para confirmar e identificar la alteración



de la secuencia de ADN. Una vez disponible el fragmento amplificado, la región puede ser analizada para identificar mutaciones asociadas a resistencia a rifampicina (20).

La identificación puede hacerse directamente por secuenciación del fragmento amplificado. Este método de secuenciación directa no es factible en la mayoría de laboratorios de diagnóstico clínico, debido al alto costo de los equipos e insumos utilizados en secuenciación. Por esta razón, la detección de mutaciones se puede llevar a cabo analizando cambios conformacionales del ADN del gen en estudio, causadas por alteraciones de nucleótidos (20).

Una de las limitaciones de la mayoría de los programas de control de tuberculosis es que el diagnóstico se basa fundamentalmente en la baciloscopia con tinción Ziehl-Neelsen, por las restricciones de tiempo y costos que representan el aislamiento primario de la bacteria, dificultando así la detección de casos de resistencia a antibióticos.

La resistencia a drogas se infiere cuando el paciente no responde al tratamiento después de dos meses de terapia, lo cual trae como consecuencia deterioro del paciente o muerte y mayor oportunidad de desarrollo de resistencia a otras drogas con el consecuente riesgo de propagación de cepas TB-MDR en la población. Como es de esperar, el esquema terapéutico DOTS fracasa en pacientes infectados con TB-MDR definidas como cepas resistentes al menos a rifampicina e isoniazida (21).

A través de diversos estudios en todo el mundo se ha encontrado que las cepas resistentes a rifampicina ya han desarrollado resistencia a otros antibióticos, por lo cual la característica de resistencia a rifampicina se considera un marcador para la detección de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* MDR. (21).



La importancia de la detección de cepas TB-MDR, utilizando rifampicina como marcador reside en que la terapia de corta duración DOTS propuesta por la OMS deja de ser la mejor opción para el tratamiento de pacientes infectados con TB-MDR y en la medida que la detección de una cepa multirresistente se haga más temprano, mayor será la probabilidad de indicar un esquema terapéutico adecuado y oportuno. Así, la caracterización y comprensión de los mecanismos moleculares de resistencia a drogas ha conducido al desarrollo de nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas (22).

4.3.1. Diagnóstico microbiológico convencional

El diagnóstico microbiológico convencional de la Tuberculosis se sustenta en las técnicas: baciloscopia, cultivo, identificación de especie y antibiograma o pruebas de susceptibilidad (23).

4.3.1.1. Diagnóstico por baciloscopia

La baciloscopia mediante la técnica de Ziehl-Neelsen es la base del diagnóstico y seguimiento de la Tuberculosis debido a que es una prueba sencilla, rápida, reproducible en todos los ámbitos y de bajo costo, lo cual la convierte en la herramienta fundamental de los programas de control de la tuberculosis (23).

El principal inconveniente con esta prueba es la sensibilidad moderada, ya que está condicionada por la localización, el grado de afectación de la enfermedad, la calidad de la muestra y el tiempo que dedica el observador para determinar que una baciloscopia es negativa. Por lo anterior, para que la baciloscopia sea positiva es preciso que la muestra tenga como mínimo entre 5.000 y 10.000 bacilos por mililitro de muestra y estas condiciones se cumplen principalmente en los pacientes con tuberculosis pulmonar, con mayor frecuencia en los que tienen un estado avanzado de la enfermedad y con lesiones cavitadas. Por otra parte, la especificidad es mayor, alcanzando valores superiores al 95%, Se puede concluir entonces que una baciloscopia negativa no descarta la Tuberculosis, pero una



baciloscopia positiva prácticamente la confirma en más del 95% de los casos y es indicación de iniciar tratamiento (24,25).

Debido a que la eliminación de los bacilos por el esputo no es constante, se recomienda analizar más de una muestra de cada sintomático respiratorio para poder realizar un diagnóstico más adecuado de la enfermedad.

En cuanto a la calidad de la muestra, un esputo mucoso o mucopurulento, el cual proveniente de árbol bronquial, es la que asegura mayor probabilidad de que se puedan observar bacilos. Se considera que una buena muestra tiene aproximadamente 3 a 5ml, es generalmente de consistencia espesa y mucoide. Puede ser fluida con partículas de material purulento. El color es variable (blanco, amarillento y hasta verdoso), en ocasiones pueden ser sanguinolentas. Las secreciones nasales, faríngeas o la saliva no son buenas muestras para investigar tuberculosis, aunque es conveniente examinarlas, de todas formas, porque siempre existe la posibilidad de que contengan parte de la expectoración o bacilos expulsados por la tos que hayan quedado en la boca, nariz o faringe (18).

Figura 1. Calidad de la muestra de esputo



Fuente: Manual para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis: baciloscopia. Organización Panamericana de la Salud

Los pasos para realizar la tinción de Ziehl Neelsen recomendada por la Organización Panamericana de la Salud son los siguientes:

1. Cubrir con fucsina filtrada



2. Calentar hasta emisión de vapores tres veces durante 5 minutos
3. Lavar con agua
4. Cubrir con decolorante durante 3 minutos
5. Lavar con agua
6. Cubrir con azul de metileno durante 1 minuto
7. Lavar con agua
8. Secar al aire

La observación microscópica debe determinar si en el extendido hay BAAR y en caso de haberlos, se debe cuantificar aproximadamente la riqueza en bacilos. Para el informe de los resultados se tiene en cuenta la siguiente escala adoptada internacionalmente (18):

Figura 2. Escala para el informe de los resultados de extendidos examinados por la técnica de Ziehl Neelsen

Resultado del examen microscópico	Informe
No se encuentran BAAR en los 100 campos observados	No se observan bacilos ácido-alcohol resistentes
Se observan de 1 a 9 BAAR en 100 campos observados	Nº exacto de bacilos en 100 campos
Se observa entre 10 y 99 BAAR en 100 campos observados	Positivo (+)
Se observan de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados	Positivo (++)
Se observan más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados	Positivo (+++)

Fuente: Manual para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis: baciloscopia. Organización Panamericana de la Salud



4.3.1.2. Diagnóstico por cultivo

El cultivo es la prueba que complementa a la baciloscopia debido a que permite poner en evidencia bacilos viables presentes en muestras escasas, identificar si es el bacilo causante de la Tuberculosis y conocer si es sensible o resistente a los medicamentos antituberculosos. Esto hace que juegue un papel primordial en escenarios en los que la incidencia de la enfermedad es baja o media, con alta coinfección con VIH y con carga mediana o alta de Tuberculosis multirresistente (19).

Una de las ventajas del cultivo con respecto a la baciloscopia es que presenta mayor sensibilidad, Puede evidenciar un mínimo de 10 a 100 BAAR presentes en una muestra, si es realizado en forma adecuada y permite detectar los casos antes de que lleguen a ser infecciosos (19). Pero a su vez, es demorado el tiempo en obtener el resultado el cual puede ser superior a 2-4 semanas.

El cultivo puede realizarse en dos formas: en medio sólido y en medio líquido. El más utilizado y más barato es el medio sólido, sobre todo los preparados a base de huevo (Löwenstein-Jensen). Sin embargo, debido a las ventajas de una menor demora en obtener los resultados (2-4 frente a 3-8 semanas), la mayor sensibilidad y la posibilidad de automatización, poco a poco se han ido generalizando los medios líquidos, cuyo inconveniente es que tienen mayores tasas de contaminación (el 8-10 frente al 3-5%) (19).



Figura 3. Método del cultivo Ogawa Kudoh

MÉTODO DE OGAWA KUDOH

Adherir a un hisopo o escobillón estéril las partículas útiles del esputo



Sumergir en un tubo con 3 ml de NaOH 4% durante 2 minutos



Inocular con el hisopo en dos tubos en medio de Ogawa acidificado

Fuente: Manual para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis: cultivo. Organización Panamericana de la Salud

La lectura del cultivo según la escala semicuantitativa es:

(-) No se observan colonias

(No de colonias) Entre 1 y 19 colonias

(+) 20 a 100 colonias

(++) Más de 100 colonias separadas

(+++) Colonias confluentes

Contaminado: Desarrollo de microorganismos ácido alcohol sensibles

4.3.2. Diagnóstico molecular por PCR en tiempo real Xpert MTB/RIF®

El Xpert MTB/RIF® constituye el primer ensayo molecular de amplificación genética para tuberculosis completamente automatizado en todas sus fases (extracción, amplificación y detección) para la identificación de Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) y resistencia a la Rifampicina, esto hace que sea un test de muy fácil manejo y que puede ser realizado por el personal de laboratorio con un mínimo entrenamiento.



El ensayo es una PCR en tiempo real que utiliza como sondas fluorescentes balizas moleculares. El Xpert MTB/RIF® permite el diagnóstico de *M. tuberculosis* con una cuantificación relativa de la carga bacilar junto con la presencia de mutaciones de resistencia a rifampicina.

Los resultados se obtienen en menos de 2 horas y necesita una infraestructura mínima. Se generan a partir de las señales fluorescentes medidas y los algoritmos de cálculo integrados y tanto su interpretación como el análisis de los datos ocurre de manera automática, de acuerdo a lo descrito en el Manual de capacitación en GeneXpert (Tabla 3) (40).

Tabla 3. Resultados e interpretaciones de la prueba Xpert MTB/RIF

Resultado	Interpretación
MTB DETECTED; Rif Resistance DETECTED (MTB DETECTADO; Resistencia a RIF DETECTADA)	La muestra contiene la secuencia diana de MTB: <ul style="list-style-type: none"> Se ha detectado una mutación en el gen rpoB que está dentro del intervalo válido para delta Ct. SPC: NA (no aplicable). No se requiere una señal de SPC porque la amplificación de MTB puede competir con este control. Comprobación de la sonda: PASS (CORRECTO). Todos los resultados de la comprobación de sonda son aceptables.
MTB DETECTED; Rif Resistance NOT DETECTED (MTB DETECTADO; Resistencia a RIF NO DETECTADA)	La muestra contiene la secuencia diana de MTB: <ul style="list-style-type: none"> No se ha detectado ninguna mutación en el gen rpoB. SPC: NA (no aplicable). No se requiere una señal de SPC porque la amplificación de MTB puede competir con este control. Comprobación de la sonda: PASS (CORRECTO). Todos los resultados de la comprobación de sonda son aceptables.
MTB DETECTED; Rif Resistance INDETERMINATE (MTB DETECTADO; Resistencia a RIF INDETERMINADA)	La muestra contiene la secuencia diana de MTB: <ul style="list-style-type: none"> No se pudo determinar la resistencia a RIF debido a una detección insuficiente de la señal. SPC: NA (no aplicable). No se requiere una señal de SPC porque la amplificación de MTB puede competir con este control. Comprobación de la sonda: PASS (CORRECTO). Todos los resultados de la comprobación de sonda son aceptables.
MTB Not Detected (MTB no detectado)	No se ha detectado la secuencia diana de MTB en la muestra: <ul style="list-style-type: none"> SPC: PASS (CORRECTO). El SPC cumplió los criterios de aceptación. Comprobación de la sonda: PASS (CORRECTO). Todos los resultados de la comprobación de sonda son aceptables.
INVALID (NO VÁLIDO)	No se puede determinar la presencia o ausencia de MTB. El SPC no cumple los criterios de aceptación, la muestra no se ha procesado correctamente o se ha inhibido la PCR. Repita la prueba. Consulte el apartado Procedimiento de repetición de la prueba de este documento. <ul style="list-style-type: none"> MTB INVALID (MTB NO VÁLIDO): No se puede determinar la presencia o ausencia de ADN de MTB. SPC: FAIL (INCORRECTO). El resultado para la secuencia diana de MTB diana es negativo y el Ct del SPC no está dentro del intervalo válido. Comprobación de la sonda: PASS (CORRECTO). Todos los resultados de la comprobación de sonda son aceptables.
ERROR	No se puede determinar la presencia o ausencia de MTB. Repita la prueba. Consulte el apartado Procedimiento de repetición de la prueba de este documento. <ul style="list-style-type: none"> MTB: NO RESULT (SIN RESULTADO) SPC: NO RESULT (SIN RESULTADO) Comprobación de la sonda: FAIL (INCORRECTO). Uno o todos los resultados de comprobación de la sonda han fallado. Nota: Si la comprobación de la sonda es correcta, el error se debe al fallo de un componente del sistema.
NO RESULT (SIN RESULTADO)	No se puede determinar la presencia o ausencia de MTB. Repita la prueba. Consulte el apartado Procedimiento de repetición de la prueba de este documento. Un resultado NO RESULT (SIN RESULTADO) indica que no se han obtenido suficientes datos. Por ejemplo, si el usuario detiene una prueba en curso. <ul style="list-style-type: none"> MTB: NO RESULT (SIN RESULTADO) SPC: NO RESULT (SIN RESULTADO) Comprobación de la sonda: NA (no aplicable)



Hasta el momento, los datos de los ensayos clínicos muestran un excelente rendimiento, tanto en pacientes con baciloscopia positiva como en los que tienen baciloscopia negativa, con una alta exactitud en la determinación de la resistencia a rifampicina. El Xpert MTB/RIF® figura entre las tecnologías que apoya la OMS para su implantación en zonas con escasos recursos económicos (Tabla 4).

Tabla 4. Recomendaciones de utilización del Xpert MTB/RIF® en condiciones de programa en Latinoamérica

Recomendaciones de utilización del Xpert-MTB/Rif® en condiciones de programa en Latinoamérica		
Condición del paciente o persona	Aplicación del XpertMTB/Rif®	Ubicación del equipo Xpert-MTB/Rif®
SR o caso de TB con riesgo alto de TB-MDR	Como prueba diagnóstica de TB y TB-MDR	Hospitales o Centros de referencia para el tratamiento de la TB-DR Clínicas y consultorios que concentran la atención de pacientes VIH positivos (Priorizar a las unidades de salud que presten asistencia a pacientes con más riesgo – población pobre)
Sospechoso TB (SR) con VIH positivo SR sin riesgo de TB-MDR ni asociación TB/VIH con un examen previo de tamizaje • Con baciloscopia negativa que continúan siendo sospechosos de TB • Con Rx de tórax que muestra anomalías	Como 1ª prueba diagnóstica de TB y TBMDR Como prueba diagnóstica adicional de TB luego de tamizaje con baciloscopia y/o Rx de tórax.	Hospitales o centros de Referencia para TB (poblaciones con alta carga de TB) En situaciones específicas (como Unidades móviles para atención de grupos poblacionales especiales)

Fuente: Implementación y aplicación costo-efectiva del sistema cerrado de PCR en tiempo real (RT-PCR) Xpert-MTB/Rif® avalado por OMS para la detección del complejo Mycobacterium tuberculosis y resistencia a rifampicina http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/2011/Implantacion_Xpert-MTB-Rif_AMRO_Guatemala.pdf

Su principal inconveniente es el costo económico, no obstante este ensayo está llamado a ser un punto de partida que pueda cambiar el curso de la Tuberculosis en dichos países (7).



La prueba tiene una sensibilidad analítica para 5 copias de ADN purificado y 131 UFC/ml en el esputo. Esta sensibilidad hace posible su uso en muestras de esputo con baciloscopia negativa (-). No tiene reacción cruzada con Micobacterias No Tuberculosas (MNTB). Estas balizas son sondas de ácidos nucleicos que reconocen y reportan la presencia o ausencia de la secuencia normal del gen *rpoβ* de tuberculosis tipo silvestre, sensible a Rifampicina.



5. HIPÓTESIS

Ho: La prueba Xpert MTB/RIF® no tiene mayor sensibilidad y especificidad comparada con la baciloscopia y el cultivo.

Ha: La prueba Xpert MTB/RIF® tiene mayor sensibilidad y especificidad comparada con la baciloscopia y el cultivo.



6. OBJETIVOS

6.1. General

Evaluar el desempeño de la prueba molecular Xpert MTB/RIF® para la detección de Tuberculosis en pacientes que acudieron a un Hospital Público de Bucaramanga durante el año 2016.

6.2. Específicos

1. Describir las características demográficas y de laboratorio de los pacientes incluidos en el estudio.
2. Estimar la prevalencia de tuberculosis según la prueba diagnóstica
3. Establecer la concordancia entre las pruebas moleculares y las convencionales.
4. Determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos y razón de verosimilitud de la prueba diagnóstica Xpert MTB/RIF® comparada con la baciloscopia y el cultivo.



7. METODOLOGÍA

7.1. Enfoque metodológico de la investigación

El presente estudio tuvo un enfoque cuantitativo analítico de estimación de características operativas (sensibilidad, especificidad) de pruebas diagnósticas, ya que comparó el desempeño diagnóstico de una nueva técnica contra técnicas de laboratorio utilizadas como pruebas de rutina o de referencia (“Gold Standar”) para el diagnóstico de Tuberculosis activa.

7.2 Tipo de estudio

Esta investigación correspondió a un estudio primario, observacional, analítico de corte transversal (cross-sectional) de pruebas diagnósticas, que evaluó el desempeño de una prueba molecular utilizada para la detección de Tuberculosis activa, en pacientes ingresados al Hospital Público de Bucaramanga y se comparó con las pruebas de baciloscopia y cultivo.

7.3. Población

Pacientes de cualquier edad y sexo con sospecha clínica de tuberculosis pulmonar o extrapulmonar activa, que residan en cualquier parte del territorio nacional.

7.4. Población elegible

Paciente que ingresaron a los servicios de urgencias, consulta externa, hospitalización, unidad de cuidados intensivos al Hospital Público de Bucaramanga o fueron remitidos de otras instituciones por sospecha clínica de tuberculosis pulmonar o extrapulmonar durante el año 2016.



7.5. Muestra

Para el presente estudio no se realizó muestreo (aleatorización y cálculo de tamaño de muestra) debido a que se tuvieron en cuenta todos los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión al estudio.

7.6. Criterios de selección

Se aplicaron los siguientes criterios de selección a los pacientes que ingresaron con sospecha de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar activa al Hospital Público de Bucaramanga.

7.6.1. Criterio de inclusión

- Paciente que tienen como mínimo dos pruebas diagnósticas la cual incluye Xpert MTB/RIF®.
- Paciente afiliado a cualquier régimen de salud y a cualquier Empresa Administradora de Planes de Beneficios (EAPB).

7.6.2. Criterios de exclusión

- Pacientes previamente diagnosticados con Tuberculosis pulmonar o extrapulmonar.
- Pacientes con resultado de la prueba Xpert MTB/RIF® inválido o error

7.7. Técnicas para la caracterización de las muestras

El sistema GeneXpert Dx integra y automatiza el procesamiento de muestras, la amplificación de ácidos nucleicos y la detección de las secuencias diana en muestras sencillas o complejas mediante ensayos de PCR y PCR de transcriptasa inversa en tiempo real. El sistema consta de un instrumento, un ordenador personal, un lector de códigos de barras y un software precargado para la realización de pruebas con las muestras recogidas y la visualización de los resultados.



Este sistema requiere el uso de cartuchos GeneXpert desechables de un solo uso para los reactivos y el proceso de PCR.

Procedimiento con sedimentos de esputo

Requisitos de volumen:

Los sedimentos de esputo preparados según el método de Kent y Kubica y resuspendidos en tampón fosfato 67 (mM/agua) pueden analizarse con el Xpert MTB/RIF® Assay. Después de la resuspensión, conserve al menos 0,5 ml del sedimento resuspendido para el Xpert MTB/RIF® Assay.

1. Etiquete cada cartucho Xpert MTB/RIF® con la identificación de la muestra.
2. Con una pipeta de transferencia, transfiera al menos 0,5 ml del total del sedimento resuspendido a un tubo cónico con tapón de rosca para realizar el Xpert MTB/RIF®. Otra posibilidad es procesar toda la muestra en el tubo original.
3. Con una pipeta de transferencia, transfiera 1,5 ml del reactivo de la muestra Xpert MTB/RIF® a 0,5 ml del sedimento resuspendido.
4. Agite enérgicamente 10 a 20 veces o utilice un mezclador vórtex durante 10 segundos como mínimo.
5. Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente y luego agite la muestra enérgicamente 10 a 20 veces o utilice un mezclador vórtex durante 10 segundos como mínimo.
6. Incube la muestra a temperatura ambiente durante 5 minutos más.

Procedimiento con una muestra de esputo expectorado

1. Etiquete cada cartucho Xpert MTB/RIF® con la identificación de la muestra.
2. En un recipiente hermético para recogida de esputo:



- A. Abra con cuidado la tapa del recipiente para recogida de esputo.
 - B. Vierta aproximadamente 2 veces el volumen del reactivo de la muestra en el esputo (dilución 2:1, reactivo:esputo).
 - C. Tape y cierre bien.
 - D. Agite enérgicamente 10 a 20 veces o utilice un mezclador vórtex durante 10 segundos como mínimo.
3. Incube la muestra durante 10 minutos a temperatura ambiente, y luego agítela enérgicamente 10 a 20 veces o utilice un mezclador vórtex durante 10 segundos como mínimo.
 4. Incube a temperatura ambiente durante 5 minutos.

Preparación del cartucho

1. Abra la tapa del cartucho y luego abra el recipiente de la muestra.
2. Con la pipeta de transferencia suministrada, aspire la muestra líquida hasta la línea de la pipeta. No siga procesando la muestra si el volumen es insuficiente.
3. Transfiera la muestra al interior de la cámara de muestra del cartucho Xpert MTB/RIF®. Dispense la muestra lentamente para reducir al mínimo el riesgo de formación de aerosol.
4. Cierre firmemente la tapa del cartucho.

Importante: Asegúrese de cargar el cartucho en el instrumento GeneXpert Dx e iniciar la prueba en un plazo de 5 horas después de preparar el cartucho.

5. Comience la prueba

- 5.1. Encienda el instrumento GeneXpert: Si está utilizando el instrumento GeneXpert Dx, encienda primero el instrumento GX Dx y luego encienda el ordenador. El software GeneXpert se iniciará automáticamente o si está utilizando



el instrumento GeneXpert Infinity, ponga en marcha el instrumento; en el escritorio de Windows®, haga doble clic en el icono de acceso rápido del software.

5.2. Inicie una sesión en el software del GeneXpert Dx System con su nombre de usuario y su contraseña.

5.3. En la ventana GeneXpert Dx System, haga clic en Create Test (Crear prueba). Aparece el cuadro de diálogo Scan Sample ID (Escanear Id. de muestra)

5.4. En el cuadro Sample ID (Id. de muestra), escanee o escriba la Id. de la muestra. Asegúrese de que escribe la identificación correcta de la muestra. La Id. de muestra se asocia a los resultados de la prueba y se muestra en la ventana View Results (Ver resultados) y en todos los informes. Aparecerá el cuadro de diálogo Scan Cartridge Barcode (Escanear código de barras del cartucho).

5.5. Escanee el código de barras del cartucho Xpert MTB/RIF. Aparecerá la ventana Create Test (Crear prueba). Utilizando la información del código de barras, el software rellenará automáticamente los cuadros de los siguientes campos: Select Assay (Seleccionar ensayo), Reagent Lot ID (Id. del lote de reactivos), Cartridge SN (N.º de serie del cartucho) y Expiration Date (Fecha de caducidad).

5.6. Haga clic en Start Test (Iniciar prueba). Introduzca su contraseña si se le solicita.

5.7. Abra la puerta del módulo del instrumento que tiene la luz verde intermitente y cargue el cartucho.

5.8. Cierre la puerta. La prueba se inicia y la luz verde deja de parpadear. Una vez finalizada la prueba, la luz se apaga.

5.9. Espere hasta que el sistema desbloquee el cierre de la puerta al final de la prueba; entonces, abra la puerta del módulo y saque el cartucho.



7.8. Descripción de las variables

Las variables incluidas en el estudio fueron las siguientes:

Tabla 5. Descripción de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN	NATURALEZA	NIVEL DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
Sexo	Corresponde al sexo del paciente por fenotipo	Cualitativa	Nominal	1. Masculino 2. Femenino
Edad	Años cumplidos basados en la fecha de nacimiento, hasta la fecha de inclusión al estudio	Cuantitativa	Razón	Años
Servicio hospitalario	Servicio médico en el cual se capta el paciente con sospecha de Tuberculosis	Cualitativa	Nominal	1. Consulta externa 2. Urgencias 3. Hospitalización 4. Unidad de cuidados intensivos 5. Remitidos
Régimen de afiliación	Modelo de aseguramiento al Sistema de Seguridad Social en Colombia en el cual se encuentra	Cualitativa	Nominal	1. Contributivo 2. Subsidiado 3. Excepción 4. Especial 5. No asegurado
Lugar de residencia	Lugar donde reside el paciente	Cualitativa	Nominal	Municipio de residencia del paciente
Tipo de muestra	Muestra para diagnóstico de tuberculosis pulmonar o extrapulmonar activa	Cualitativa	Nominal	1. Esputo 2. Aspirado gástrico 3. Lavado broncoalveolar 4. Líquido cefalorraquídeo
Calidad de la muestra	Características de la muestra	Cualitativa	Nominal	1. Moco 2. Saliva 3. Hemoptoica 4. Mucopurulenta
Baciloscopia	Resultado de la baciloscopia	Cualitativa	Nominal	1. Positivo 2. Negativo
Cultivo	Resultado del cultivo	Cualitativa	Nominal	1. Positivo 2. Negativo
Xpert	Resultado de la prueba Xpert MTB/RIF®	Cualitativa	Nominal	1. Positivo 2. Negativo
Resistencia a rifampicina	Resultado de resistencia a Rifampicina por la prueba Xpert MTB/RIF®	Cualitativa	Nominal	1. Resistente 2. No resistente 3. Indeterminado

7.9. Técnicas de recolección de información

Los pacientes fueron evaluados en cada uno de los servicios hospitalarios del Hospital Público de Bucaramanga: consulta externa, urgencias, hospitalización y unidad de cuidados intensivos por su respectivo médico tratante y de acuerdo al cuadro clínico se les solicitó examen para búsqueda de *Mycobacterium tuberculosis*. También se incluyeron pacientes que fueron remitidos por otras instituciones para que se les realizara el examen en el laboratorio clínico de la institución. Las muestras de los pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar o extrapulmonar activa incluidos en el estudio fueron recepcionadas en el laboratorio clínico de la institución; se recibieron muestras biológicas de aspirado gástrico, esputo, lavado broncoalveolar y líquido cefalorraquídeo. A las muestras de esputo se les evaluó la calidad de la misma teniendo en cuenta si se encontraban con presencia de moco, saliva, hemoptoica o mucopurulentas.

7.9.1. Fuentes de información

Como fuente de información se utilizó el libro de registro de baciloscopia y cultivo y el libro de procesamiento del laboratorio clínico donde se registraron los resultados del Xpert MTB/RIF®. En estos se encontraban registrados aparte de los resultados de las pruebas, los datos demográficos de los pacientes.

7.9.2. Instrumento de recolección de la Información

Los datos de los libros fuentes de información fueron consolidados y exportados a un documento en Excel para su posterior análisis.



7.9.3. Proceso de obtención de la información

Los datos fueron diligenciados por el profesional encargado del laboratorio de Micobacterias del Hospital Público de Bucaramanga, quien además fue el encargado de procesar las muestras y generar los reportes de resultados. Estos datos llegaron al Laboratorio Departamental de Salud Pública de Santander y con la debida autorización del custodio de la base de datos, se tuvo acceso a la información para su respectivo análisis.

7.10. Control de errores y sesgos

Los principales sesgos relacionados con estudios de pruebas diagnósticas se describen a continuación, dichos sesgos fueron evaluados y descartados durante el proceso de análisis:

- Sesgo por inadecuado espectro de la enfermedad

La población a estudiar contempló el espectro más exacto posible al contexto clínico de utilización de las pruebas en evaluación, distintos grados de exactitud para diferentes grados de severidad de la enfermedad.

- Sesgo del patrón de oro imperfecto

Constituye uno de los retos metodológicos más importantes. En este caso se estableció el cultivo como patrón que fue utilizado como patrón de oro.

- Sesgo de incorporación

La adecuada conceptualización del patrón de oro y de las nuevas pruebas para evitar este sesgo.

- Sesgo por revisión del diagnóstico o de la prueba.

Hubo dos operadores diferentes para las diferentes técnicas diagnósticas realizadas, uno procesó baciloscopias y otro el cultivo junto con el Xpert



MTB/RIF®. Estos a su vez estaban cegados para el resultado de las otras técnicas, así como desconocían la información clínica y categoría del paciente o sujeto control de quien procedía la muestra.

- Sesgo de verificación diagnóstica

En el estudio el resultado de la prueba no condicionó la realización del patrón de oro. Todos los pacientes fueron evaluados prospectivamente de la misma manera y a todos se les realizaron todas las pruebas en evaluación.

- Resultados no interpretables.

Se realizó repetición de la prueba cuando fue necesaria y no se realizó exclusión de resultados indeterminados.

- Sesgo por variabilidad en la interpretación de los resultados

Las características y procedimientos intrínsecos de las pruebas a realizar hacen improbable este sesgo. Además, las personas que realizan cada prueba tienen amplio entrenamiento y son expertas en su área. De cualquier forma, se aplicaron controles de calidad de laboratorios externos de referencia.

- Sesgo de Información

Las herramientas de obtención de información se estandarizaron y se realizó doble revisión de la base de datos para encontrar posibles errores de digitación.

7.11. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

El análisis se efectuó en tres etapas con los paquetes estadísticos IBM SPSS, Statistics 22® y Epidat 3.1. Durante la primera etapa se realizó el análisis univariado en el cual se describieron las variables cuantitativas mediante el cálculo de medidas de tendencia central y dispersión y para las cualitativas se calcularon frecuencias absolutas y relativas.



En la segunda etapa se calculó el Coeficiente kappa de Cohen, que es una medida estadística que ajusta el efecto del azar en la proporción de la concordancia observada para la prueba molecular y las pruebas convencionales.

Por último se calcularon los siguientes estimadores, cada uno con su respectivo intervalo de confianza al 95%.

- Sensibilidad
- Especificidad
- Valor predictivo positivo
- Valor predictivo negativo
- Razón de verosimilitud positivo
- Razón de verosimilitud negativo



8. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Según la normatividad colombiana sobre el desarrollo de investigaciones, contemplada en la Resolución No.008430 de 1993 del Ministerio de Salud y en la ley 94 de 1989, este es un estudio de riesgo menor al mínimo ya que no se plantea ninguna intervención particular sobre los pacientes. Para garantizar la confidencialidad de los pacientes, se establecieron estrategias para evitar la identificación no consentida en escenarios o por terceros no relacionados con la investigación.

El estudio se realizó conforme a los datos que llegaron al Laboratorio Departamental de Salud Pública de Santander, con la debida autorización del custodio de la base de datos antes de tener acceso a la información. Los procedimientos para otorgar autorización cumplieron con los códigos de confidencialidad reconocidos.

Este estudio cumple con los principios éticos de investigación reglamentados nacionalmente e internacionalmente con la Declaración de Helsinki en 1964, revisada en Tokio en 1975, Venecia 1983, Hong- Kong 1989 y otras revisiones en la 48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica, en Octubre 1996; y en la 52ª Asamblea General Edimburgo, Escocia, en octubre del año 2000.

El investigador no presenta conflicto de interés para el desarrollo del proyecto.



9. RESULTADOS

9.1. Características demográficas y clínicas de la población

Se analizaron los datos de 512 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión al estudio; de los pacientes excluidos, tres pacientes tuvieron error en la prueba Xpert MTB/RIF® y uno tuvo resultado inválido. Del total de muestras analizadas el 68,2% (349) provenían de hombres. La mediana de edad en ambos sexos fue 45 años (mín1-máx 99 años), siendo la mediana de edad para los hombres de 43 años (mín1-máx 100 años) y para las mujeres de 48 (mín 2-máx 95 años). El 41,2% (211) de los pacientes procedían del área de urgencias, el 29,5% (151) de hospitalización y el 24,0% (123) correspondieron a pacientes de otra institución que llegaron al laboratorio del hospital con la orden de solicitud del examen. El 65,0% (333) de los pacientes pertenecían al régimen subsidiado del sistema de salud, el 21,3% (109) al régimen excepción y el 7,4% (38) no se encontraban asegurados. El principal tipo de muestra para el diagnóstico fue esputo en el 82,8% (424) de los casos y en cuanto a la calidad de la muestra, el 35,7% (183) presentaba moco (Tabla 6).

Tabla 6. Características de los pacientes incluidos en el estudio

Característica	N	%
Edad		
Media (D.E.)	45,2 (19,93)	
Mediana (RIC)	45 (99)	
Sexo		
Hombres	349	68,2
Mujeres	163	31,8
Lugar de residencia		
Santander	503	98,2
Fuera de Santander	9	1,8
Servicio hospitalario		
Urgencias	211	41,2
Hospitalización	151	29,5
Remitidos	123	24,0
Consulta externa	20	3,9
Unidad de cuidados intensivos	7	1,4
Régimen de afiliación		
Subsidiado	333	65,0
Excepción	109	21,3



Característica	N	%
No asegurado	38	7,4
Contributivo	23	4,5
Especial	9	1,8
Tipo de muestra		
Esputo	424	82,8
Líquido cefalorraquídeo	53	10,4
Lavado broncoalveolar	34	6,6
Aspirado gástrico	1	0,2
Calidad de la muestra		
Moco	183	35,7
Mucopurulenta	133	26,0
Adecuada	89	17,4
Saliva	66	12,9
Hemoptoica	41	8,0

El 98,2% (503) de los pacientes residían en el departamento de Santander, siendo el 84,0% (430) del municipio de Bucaramanga, el 2,9% (15) de Barrancabermeja y el 2,7% (14) de Floridablanca. El 1,8% (9) residía fuera del departamento de Santander (Tabla 7).

Tabla 7. Municipio de residencia de los pacientes incluidos en el estudio

Municipio	Frecuencia	Porcentaje
Bucaramanga	430	84,0
Barrancabermeja	15	2,9
Floridablanca	14	2,7
Girón	13	2,5
Lebrija	4	0,8
Piedecuesta	4	0,8
Rionegro	4	0,8
Puerto Wilches	3	0,6
San Vicente de Chucuri	3	0,6
Aguachica	2	0,4
Araquita	2	0,4
Sabana de Torres	2	0,4
Vélez	2	0,4
Cachira	1	0,2
Charta	1	0,2
Chipatá	1	0,2
Curití	1	0,2
El Peñón	1	0,2
El Playón	1	0,2



Municipio	Frecuencia	Porcentaje
La Mesa	1	0,2
Málaga	1	0,2
Ocaña	1	0,2
Oiba	1	0,2
San Gil	1	0,2
San Martin	1	0,2
San Pablo	1	0,2
Saravena	1	0,2
Total	512	100

9.2. Prevalencia de Tuberculosis activa por prueba diagnóstica

La baciloscopia fue realizada a todas las muestras y la prevalencia de Tuberculosis por esta prueba fue del 15,6% (80). El cultivo por su parte, fue realizado al 97,0% (497) de las muestras y se logró el aislamiento de colonias características compatibles con *Mycobacterium tuberculosis* en el 14,7% (73) de estas. La prevalencia de tuberculosis por medio de la prueba de Xpert MTB/RIF® fue del 20,9% (107) (Tabla 8).

Tabla 8. Prevalencia de tuberculosis según las diferentes pruebas

Test	Prevalencia (%)	n (N)
Baciloscopia	15,6	80 (512)
Cultivo	14,7	73 (497)
Xpert MTB/RIF®	20,9	107 (512)

Los análisis fueron positivos principalmente en hombres, en menores de 45 años y con muestra de lavado broncoalveolar para las tres pruebas, obteniéndose mayor porcentaje de positividad con el Xpert MTB/RIF® comparada con la BK y el cultivo (Tabla 9).

Tabla 9. Características por tipo de prueba realizada

Característica	Baciloscopia Positivo (%)	Cultivo Positivo (%)	Xpert MTB/RIF Positivo (%)
Sexo			
Hombres	60 (17,2)	54 (16,1)	80 (22,9)
Mujeres	20 (12,3)	19 (11,7)	27 (16,6)



Edad			
Menor 45 años	49 (19,9)	46 (18,7)	63 (25,6)
45 años o más	31 (11,7)	27 (10,2)	44 (16,5)
Tipo de muestra			
Espuito	74 (17,5)	66 (16,1)	98 (23,1)
Líquido cefalorraquídeo	0 (0,0)	1 (1,9)	0 (0,0)
Lavado broncoalveolar	6 (17,6)	6 (17,6)	9 (26,5)
Aspirado gástrico	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Del total de muestras positivas por la prueba Xpert MTB/RIF®, el 92,5% (99) no fue resistente a rifampicina, el 6,5% (7) fue resistente y el 0,9% (1) fue indeterminado. La resistencia fue predominante en mujeres con el 57,1% (4), en menores de 45 años con el 71,4% (5) y todos provenientes de muestras pulmonares, espuito en el 71,4% (5) y lavado broncoalveolar en el 28,6% (2).

9.3. Concordancia entre pruebas

Al analizar la concordancia entre las pruebas por medio del coeficiente Kappa, se encontró que el Xpert MTB/RIF® y el cultivo tuvieron una concordancia del 78,2% y en mayor porcentaje el Xpert MTB/RIF® y la baciloscopia con el 82,4% (Tabla 10).

Tabla 10. Resultados del Coeficiente Kappa

Métodos diagnósticos	Índice Kappa (IC 95%)
Xpert MTB/RIF <u>vs.</u> Baciloscopia	0,82 (0,7606- 0,8877)
Xpert MTB/RIF <u>vs.</u> Cultivo	0,78 (0,7092- 0,8549)

9.4. Sensibilidad, especificidad, valores predictivos y razón de verosimilitud

La prueba Xpert MTB/RIF® tuvo una sensibilidad de 100 % (IC95% 99,4-100), y una especificidad de 93,7 % (IC95% 91,3-96,1) comparada con los resultados de la baciloscopia. Con respecto al cultivo, a prueba Xpert MTB/RIF® tuvo una



sensibilidad de 95,9% (IC95% 90,6-100) y una especificidad de 93,4 % (IC95% 90,6-100) (Tabla 11).

Tabla 11. Resultados de la prueba Xpert MTB/RIF® comparado con baciloscopia y cultivo

Indicador	Xpert MTB/RIF vs. BK Estimador (IC: 95%)	Xpert MTB/RIF vs. Cultivo Estimador (IC: 95%)
Sensibilidad	100 (99,38-100)	95,89 (90,65-100)
Especificidad	93,75 (91,35-96,15)	93,40 (90,91-95,88)
VPP	74,77 (66,07-83,46)	71,43 (61,97-80,88)
VPN	100 (99,88-100)	99,25 (98,28-100)
RVP	16,00 (11,10-23,05)	14,52 (10,12-20,84)
RVN	(-)	0,04 (0,01-0,13)



10. DISCUSIÓN

La Tuberculosis es considerada un problema de salud pública debido a la alta morbilidad y mortalidad que se presenta en las Américas y en Colombia. De acuerdo a los datos reportados por el Observatorio de Salud Pública de Santander (OSPS), para el quinquenio 2012-2016 se notificaron 2.378 nuevos casos de Tuberculosis pulmonar en el departamento y el promedio de edad de los casos notificados fue $46,8 \pm 20,6$ años, similar a lo encontrado en nuestro estudio donde la media de la edad de los pacientes incluidos con sospecha de Tuberculosis fue 45,2 años. En cuanto a la distribución por sexo, el OSPS reportó predominio de hombres con el 64,5% de los casos, que para nuestro estudio fue de 68,2%. De igual forma, el OSPS encontró que los casos se agruparon principalmente en tres municipios correspondientes a Bucaramanga con el 43,2%, seguido de Barrancabermeja con 20,3% y Floridablanca con 12,0%, que en nuestro estudio fueron también los tres municipios con mayor número de pacientes con sospecha de la enfermedad. Con respecto al régimen de afiliación al Sistema General de Seguridad Social en Salud (SGSSS), el subsidiado fue el principal tanto en el OSPS como en nuestro estudio (26).

Una vez analizadas las muestras por baciloscopia como método convencional, el cultivo como estándar de oro y la prueba molecular Xpert MTB/RIF®, se encontró mayor positividad en hombres, lo cual es similar a lo reportado por el OSPS y por otra parte, a lo referido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en un reporte titulado “Tuberculosis y género” en el cual menciona que en gran parte del mundo hay más hombres que mujeres a los que se les diagnostica esta enfermedad y esta situación puede deberse en parte a diferencias epidemiológicas como la exposición, riesgos de infección y la progresión desde el estadio de infección al de enfermedad (27). De igual forma, González R. et al. refiere en su artículo que los pacientes del sexo masculino son los más frecuentes y se asocian



con factores de riesgo para sufrir la enfermedad relacionados al consumo de tabaco, alcohol, drogadicción y al mayor desarrollo de vida social ya que por ser quienes generalmente trabajan para el sustento de su hogar, se exponen más a pacientes portadores de la enfermedad en comparación con las mujeres quienes en su mayoría se limitan al trabajo doméstico y a la crianza de los hijos lo que hace que tengan menos posibilidad de contacto social (28). Algo similar fue reportado por Peña C. y Torres Z. y Gómez MP et al. lo cual permite deducir que los hombres son más propensos a presentar la enfermedad debido a los hábitos socioculturales como mayor abuso de sustancias psicoactivas, mayor carga laboral o menor compromiso en el autocuidado (29-30). Con respecto a la situación en el país, el INS reportó que para el 2017 el 64,2 % de los casos de tuberculosis se registró en el sexo masculino, similar a lo encontrado en nuestro estudio (31).

Se encontró mayor incidencia de la enfermedad en los menores de 45 años por las tres pruebas diagnósticas, lo cual coincide con los resultados encontrados por Peña C. y Torres Z. donde el grupo de edad entre 15-24 años fueron los más frecuentes y la Sociedad Valenciana de Medicina Familia Comunitaria en Santa Cruz de la Zarza, España reportó mayores frecuencias en las edades de 15 a 44 años (32). El INS también reportó que el mayor porcentaje de casos se presentó en los menores de 45 años (31).

El tipo de muestra con el que se pudo obtener mayor porcentaje de positividad en las tres pruebas fue el lavado broncoalveolar a pesar que la muestra más frecuente fue el esputo, lo cual se relaciona con lo reportado por Theron G. et al. en un estudio que evaluó la precisión y el impacto del Xpert MTB/RIF® utilizando lavado broncoalveolar encontrando que esta prueba con este tipo de muestra detectó casos de manera más precisa y demostró un rendimiento excelente para la detección de la TB en un contexto prevalente de VIH (33).



Dentro de las estrategias más importantes para el manejo de la Tuberculosis está lograr un diagnóstico precoz y para esto, las pruebas moleculares juegan un papel importante pues abren nuevas posibilidades de detección y caracterización del agente causal. Los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC por sus siglas en inglés), recomiendan el uso de pruebas moleculares adicional a las pruebas tradicionales con el fin de complementar el diagnóstico clínico siendo más rápido y sensible (34).

Una revisión Cochrane que incluyó 21 estudios, realizada como parte del proceso de la OMS para desarrollar directrices actualizadas sobre el uso de la prueba, reportó que para la baciloscopia positiva, el Xpert MTB/RIF® tuvo una sensibilidad agrupada de 98% (IC95%97%-99%), valor que fue igual para el cultivo (35). Los resultados de la evaluación del desempeño de Xpert MTB/RIF® en el Hospital Público de Bucaramanga después del primer año de su implementación permitieron conocer que la sensibilidad con respecto a la baciloscopia fue del 100% y el cultivo fue del 96%.

La OMS respalda el uso del Xpert MTB/RIF® como una tecnología de primera línea para el diagnóstico de la tuberculosis, también fundamentado en otra revisión de estudios dentro de los cuales refirieron los resultados de ensayos de validación clínica controlados con 1.730 individuos sospechosos de TB que mostró que el 92,2% de los pacientes con cultivo positivo fueron detectados por una sola prueba directa Xpert MTB/RIF® y la sensibilidad de una sola prueba Xpert MTB/RIF® en frotis los pacientes negativos/con cultivo positivo fueron 72,5% y aumentaron a 90,2% cuando se probaron tres muestras. La especificidad Xpert MTB/RIF® fue del 99% (36).

La sensibilidad del Xpert MTB/RIF® con respecto al cultivo en nuestro estudio fue de 95,9% y la especificidad 93,4%, similar a lo reportado por Theron G. et al. en un proyecto que evaluó el Xpert MTB/RIF® para el diagnóstico de Tuberculosis pulmonar en un contexto de alta prevalencia del VIH, encontrando que en general



el Xpert MTB/RIF® detectó un 95% de los casos con cultivo positivo con frotis positivo y la especificidad fue del 94% (37).

La baciloscopia tiene escasa sensibilidad que oscila entre 45%-80% con casos de Tuberculosis pulmonar confirmados por cultivo y bajo valor predictivo positivo que va del 50% al 80% a pesar de ser una prueba rápida y económica en comparación con el cultivo. Adicionalmente, la prueba convencional de baciloscopia permite obtener resultados en menos de 24 horas y el cultivo como prueba gold estándar requiere de 2 a 6 semanas para conocer los resultados, lo cual limita un poco el diagnóstico rápido y oportuno. Por lo tanto, las pruebas moleculares están recomendadas para mejorar los tiempos de respuesta, ya que los resultados de laboratorio más rápidos conducen a un inicio más temprano del tratamiento, mejores resultados para el paciente y mayores oportunidades para interrumpir la transmisión (39-39).

De los pacientes de este estudio con resistencia a la rifampicina todos correspondieron a muestras respiratorias, contrario a lo reportado por Vallejo en el que solo el 66% de muestras resistentes fueron respiratorias (5). Este examen es importante cuando se sospecha de resistencia a la rifampicina ya que el detectarla precozmente permite el diagnóstico de TB-MDR la cual requiere de tratamiento diferente.



11. CONCLUSIONES

La Tuberculosis es una enfermedad infecciosa que en este estudio tuvo predominio en hombres, comportamiento similar al descrito por la literatura mundial, el país y el departamento. Se encontró que las personas jóvenes y en edad productiva fueron las más afectadas, lo cual también se relaciona con lo reportado en la literatura.

Este es el primer reporte del uso de la prueba Xpert MTB/RIF® después de un año de implementación en un Hospital Público de Bucaramanga. La implementación de esta nueva metodología molecular en el departamento de Santander permitió su oferta, aumentando el acceso a este tipo de prueba a través de las empresas administradoras de planes de beneficio.

La sensibilidad y especificidad obtenida en este estudio tuvo relación con lo que han descrito en otros estudios. Los resultados obtenidos permiten concluir que aunque la baciloscopia es la herramienta fundamental de un programa de control de la tuberculosis y el cultivo sigue siendo la prueba de oro para la confirmación de Tuberculosis por ser útil y necesaria para el aislamiento de las bacterias causantes de la enfermedad y evaluar la susceptibilidad a medicamentos; las pruebas moleculares acortan el tiempo necesario para el diagnóstico y puede llegar a convertirse en una estrategia para pacientes con sospecha de Tuberculosis que debe ser tenida en cuenta por los programas de salud pública.

Para el cumplimiento de las metas de la Organización Mundial de la Salud en tuberculosis es necesario la realización de pruebas moleculares para identificación de *Mycobacterium tuberculosis* y resistencia a Rifampicina las cuales se pueden obtener utilizando el sistema Xpert MTB/RIF®. La realización de métodos moleculares deben estar acompañados de la baciloscopia y métodos fenotípicos como lo son el cultivo y las pruebas de sensibilidad.



En las instituciones de salud que realizan pruebas moleculares para identificación de *M. tuberculosis* y pruebas de sensibilidad es necesario adicionalmente la realización del cultivo en medio lowenstein- Jensen y/o medio líquido.

Se debe priorizar la realización de pruebas de biología molecular en el sistema Xpert MTB/RIF® a población vulnerable y en riesgo de multidrogorresistencia para que se evidencie un fortalecimiento real a los programas de control de la Tuberculosis.

Con la implementación del sistema Xpert MTB/ RIF, es necesario que los profesionales del área de la salud fortalezcan y amplíen sus conocimientos en la utilización de este tipo de prueba, para lograr una mejor oferta que se vea reflejada en un verdadero impacto en el control de la Tuberculosis.

Estos resultados pueden complementar los obtenidos por otras instituciones del departamento como el Observatorio de Salud Pública de Santander de modo que sirvan de insumo para orientar las acciones, la toma de decisiones y las políticas públicas que contribuyan a mejorar las condiciones de salud de la población santandereana.



12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Organización Mundial de la Salud.** Informe Mundial Sobre la tuberculosis 2016. 2016. Disponible en:
http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr2015_execsummary_es.pdf
2. **Instituto Nacional de Salud.** Informe del evento preliminar de Tuberculosis hasta el periodo epidemiológico XIII Colombia, 2017. Disponible en:
<http://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/TUBERCULOSIS%20PE%20XIII%202017.pdf>
3. **Arráiz N, Romay Z, Faría N.** Evaluación de un ensayo de RPC múltiple para diferenciar micobacterias del complejo Mycobacterium tuberculosis en un laboratorio de referencia. Revista chilena de infectología. 2007;24(2):99-105.
4. **González-Martín J, García-García JM, Anibarro L, Vidal R, Esteban J, Blanquer R, et al.** Documento de consenso sobre diagnóstico, tratamiento y prevención de la tuberculosis. Archivos de Bronconeumología. 2010;46(5):255-74.
5. **Vallejo P, Searle A, Farga V.** Ensayo Xpert MTB/RIF en el diagnóstico de tuberculosis. Revista chilena de enfermedades respiratorias. 2015;31(2):127-31.
6. **Organización Mundial de la Salud.** Plan Mundial para detener la Tuberculosis 2006-2015. Actuar para salvar vidas, Alianza Alto a la TB. OMS Ginebra; 2006. Disponible en:
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43438/1/9243593994_spa.pdf.
7. **World Health Organization.** Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children: policy update. Geneva: World Health Organization. 2013. Disponible en:
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112472/1/9789241506335_eng.pdf?ua=1.
8. **Gomez JE, McKinney JD.** M. tuberculosis persistence, latency, and drug tolerance. Tuberculosis. 2004;84(1):29-44.



9. **Brennan PJ.** Structure, function, and biogenesis of the cell wall of *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis*. 2003;83(1):91-7.
10. **Cuevas-Córdoba B,** Zenteno-Cuevas R. Tuberculosis drogorresistente: mecanismos moleculares y métodos diagnósticos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2010;28(9):621-8.
11. **World Health Organization.** Initiative ST. Treatment of tuberculosis: guidelines: World Health Organization; 2010.
12. **Quirós-Roldán E,** Airoidi M, Moretti F, Carosi G. Bases moleculares de resistencia de *Mycobacterium tuberculosis*. *Revista de Diagnóstico Biológico*. 2001;50(4):200-3.
13. **Said-Fernández S,** Becerrill-Montes P, Molina-Salinas G, Barrios-García H, Vargas-Villarreal J. Tuberculosis causada por cepas de *Mycobacterium tuberculosis* drogoresistentes. *Enfermedades Emergentes*. 2005;7(1):13-9.
14. **Bossa Aldana MA.** Tuberculosis, riesgo creciente en trabajadores de la salud, un análisis del conocimiento y medidas de bioseguridad en personal asistencial del HSB. 2016.
15. **Caws M,** Drobniowski F. Molecular techniques in the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* and the detection of drug resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2001;953(1):138-45.
16. **Marín M,** De Viedma DG, Ruíz-Serrano MJ, Bouza E. Rapid direct detection of multiple rifampin and isoniazid resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory samples by real-time PCR. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2004;48(11):4293-300.
17. **Zhang Y,** Mitchison D. The curious characteristics of pyrazinamide: a review. *The international journal of tuberculosis and lung disease*. 2003;7(1):6-21.
18. **Organización Panamericana de la Salud.** Manual para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis. Normas y guía técnica . Parte I baciloscopia. 2008. Disponible en: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/166101/1/9789275330135.pdf>.



19. **Organización Panamericana de la Salud.** Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Normas y guía técnica. Parte II cultivo. 2008. Disponible en: [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/tuberculosis/tb-labs-cultivo\[2\].pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/tuberculosis/tb-labs-cultivo[2].pdf).
20. **Jaramillo E.** Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis: World Health Organization; 2008.
21. **Guevara Guzmán A,** Juárez Hernández A, Zenteno Cuevas R. Tuberculosis y la importancia de incorporar nuevas metodologías diagnósticas. MedUNAB. 2010;6(16).
22. **Martin A,** Panaiotov S, Portaels F, Hoffner S, Palomino JC, Angeby K. The nitrate reductase assay for the rapid detection of isoniazid and rifampicin resistance in Mycobacterium tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2008;62(1):56-64.
23. **Ruiz-Manzano J.** Blanquer R. Calpe J. Caminero J. Cayla J. et al. Diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis. Arch Bronconeumol, 2008;44(10):551-66
24. **Palomino JC,** Cardoso Leão S, Ritacco V. Tuberculosis 2007. From basic science to patient care. Disponible en: <http://www.tuberculosis-textbook.com/tuberculosis2007.pdf>
25. **Caminero JA.** Management of multidrug-resistant tuberculosis and patients in retreatment. Eur Respir J. 2005;25:928-36.
26. **Observatorio de Salud Pública de Santander.** Tuberculosis pulmonar en Santander. Rev. OSPS. 2017; 12; núm 02:1-44.
27. **Organización Mundial de la Salud.** Tuberculosis y género. Disponible en: http://www.who.int/tb/challenges/gender/page_1/es/.
28. **González-Rodríguez NT,** Di Vasto-Cuellar G, Rodríguez-Heredia O, Barranco-Pedraza L. Comportamiento clínico epidemiológico de la tuberculosis pulmonar. AMC [Internet]. 2010 Ago [citado 2018 Mar 01]; 14(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552010000400015&lng=es.



29. **Peña C**, Torres Z. Evolución de la TBC en la Región Metropolitana entre 2001 y 2005. *Rev Chil Enf Respir.* 2007; 23:211-6.
30. **Gómez MP**, Achiong EF, Morales JM, Núñez VL, Quintana HJ, Pérez CG. Evaluación de los indicadores operacionales del programa de la tuberculosis. Matanzas. Años 2000-2006. *Rev Méd Elect.* 2008; 30(5):1-5.
31. **Instituto Nacional de Salud.** Informe del evento preliminar de Tuberculosis hasta el periodo epidemiológico XIII Colombia, 2017. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/TUBERCULOSIS%20PE%20XIII%202017.pdf>.
32. **Alonso FJ**, García MC, Lougedo MJ, Comas SJ, García PM, López CF, et al. Prevalencia de Infección Tuberculosa en las personas Inmigrantes del área de salud de Toledo. *Rev Esp Sal Púb.* 2004; 78(5):593-600.
33. **Theron G**, Peter J, Meldau R, et al. Accuracy and impact of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of smear-negative or sputum-scarce tuberculosis using bronchoalveolar lavage fluid. *Thorax.* 2013;68(11):1043-1051. doi:10.1136/thoraxjnl-2013-203485.
34. **Marín DC**, Aristizábal BH. Métodos diagnósticos moleculares en tuberculosis. *Med UPB.* 2013;32:144-50.
35. **Steingart KR**, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme CC, ensayo Dendukuri N. Xpert® Mtb / Rif para tuberculosis pulmonar y resistencia a la rifampicina en adultos. *La base de datos Cochrane de revisiones sistemáticas.* 2014; (1): 1-166. doi: 10.1002 / 14651858.CD009593.pub3.
36. **World Health Organization.** Roadmap for rolling out Xpert MTB/RIF for rapid diagnosis of TB and MDR-TB. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2010. Disponible en: http://www.who.int/tb/laboratory/roadmap_xpert_mtb-rif.pdf.
37. **Theron G**, Peter J , van Zyl-Smit R , Mishra H , Streicher E. et al. Evaluation of the Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in a high HIV prevalence setting. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011 Jul 1;184(1):132-40. Doi: 10.1164/rccm.201101-0056OC.



38. **Centers for Disease Control and Prevention.** National plan for reliable tuberculosis laboratory services using a systems approach: recommendations from CDC and the Association of Public Health Laboratories Task Force on Tuberculosis Laboratory Services. *MMWR* 2005;54(No. RR-6):1—12.
39. **American Thoracic Society;** CDC; Council of the Infectious Disease Society of America. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1376—95.
40. Organización Mundial de la Salud. Manual de Capacitación en GeneXpert 2017. Disponible en:
http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=12924&Itemid=42250&lang=es

